



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**  
DIVISIÓN ACADÉMICA DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA



---

---

**“Actividad antibacteriana de  
nanomateriales de CuO, TiO<sub>2</sub> y CuO/TiO<sub>2</sub>  
con potencial aplicación en superficies  
construidas”**

**TESIS**

Para obtener el grado de:  
**Maestra en Ciencias en Ingeniería**

**Presenta:**

Ing. Zurisadai Martínez Corona

**Director:**

Dr. Rosendo López González

**Codirector:**

Dr. David Salvador García Zaleta

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

En la Ciudad de Cunduacán, Tabasco, el día 1 del mes de Junio del año 2024, que suscribe Ing. Zurisadai Martínez Corona alumna del Programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería con número de matrícula 202D19012, adscrito a la División Académica de Ingeniería y Arquitectura, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autor de la Tesis presentada para la obtención del grado y titulada "Actividad antibacteriana de nanomateriales de CuO, TiO<sub>2</sub> y CuO/TiO<sub>2</sub> con potencial aplicación en superficies construidas" dirigida por el Dr. Rosendo López González y el Dr. David Salvador García Zaleta.

### DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita. Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente

Cunduacán, Tabasco a 1 de junio de 2024.

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Zurisadai Martínez Corona



JEFATURA DE POSGRADO

Cunduacán, Tabasco a 30 de julio de 2024.

**MEM/AP-DAIA/170/2024**

PARA **DRA. DORA MARÍA FRÍAS MÁRQUEZ**  
DIRECTORA DE LA DAIA  
DE: COMISIÓN SINODAL  
ASUNTO: APROBACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA

Una vez hecha la revisión detallada del Trabajo de Tesis denominado:


**"Actividad antibacteriana de nanomateriales de CuO, TiO<sub>2</sub> y CuO/TiO<sub>2</sub> con potencial aplicación en superficies construidas"**


Desarrollado por la **Ing. Zurisadai Martínez Corona**, de la **Maestría en Ciencias en Ingeniería**, le comunicamos que aceptamos la impresión del trabajo, ya que el mismo ha cumplido con los requisitos necesarios.

**COMITÉ SINODAL**

  
**DR. ROSENDO LÓPEZ GONZÁLEZ**  
PRESIDENTE

  
**DRA. ANGÉLICA SILVESTRE LÓPEZ**  
**RODRÍGUEZ**  
SECRETARIO

  
**DR. DAVID SALVADOR GARCÍA ZALET A**  
VOCAL 1

  
**DR. SERGIO ALBERTO GÓMEZ**  
**CORNELIO**  
VOCAL 2

  
**DRA. CINTHIA GARCÍA MENDOZA**  
VOCAL 3

**DIRECCIÓN**

**OFICIO:** DAIA/DIR/1734/2024  
**FECHA:** 02 de agosto de 2024  
**ASUNTO:** Autorización de  
impresión definitiva

**ING. ZURISADAI MARTÍNEZ CORONA**  
PASANTE DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA  
**PRESENTE**

En virtud de haber elaborado su trabajo de tesis denominado:

**"Actividad antibacteriana de nanomateriales de CuO, TiO<sub>2</sub> y CuO/TiO<sub>2</sub>  
con potencial aplicación en superficies construidas"**

Para obtener el grado de **Maestro en Ciencias en Ingeniería** y en el cual ha  
tenido como Director de Tesis a el Dr. Rosendo López González y Codirector al  
Dr. David Salvador García Zaleta

Tengo a bien autorizarle la IMPRESION DEFINITIVA de dicho trabajo, continuando  
con los trámites correspondientes para su examen de obtención de grado.

Agradeciendo de antemano sus atenciones, le envío un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**



**DRA. DORA MARÍA FRÍAS MÁRQUEZ**  
**DIRECTORA**

c.c.p. Archivo

DRA'DMFM / LB'EC



**DIRECCIÓN**

Carretera Cunduacán - Jalpa de Méndez, km 1, Col. La Esmeralda,  
C.P.86690 Cunduacán, Tabasco  
Tel. (993) 358.15.00 Ext. 6752  
e-Mail: direccion.daia@ujat.mx

## CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Cunduacán, Tabasco a 1 de junio de 2024.


Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTORA en la producción, creación y/o realización de la obra denominada "Actividad antibacteriana de nanomateriales de CuO, TiO<sub>2</sub> y CuO/TiO<sub>2</sub> con potencial aplicación en superficies construidas".


Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

**ATENTAMENTE**

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Zurisadai Martínez Corona

**TESTIGOS**

  
\_\_\_\_\_  
Dr. David Salvador García Zaleta

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Rosendo López González

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

*“I can do all things through Christ who strengthens me.”*  
**Philippians 4:13**

## DEDICATORIAS

*Primeramente, le dedico esta tesis a Dios, por darme la vida, la capacidad, la paciencia y coraje de no rendirme, por estar siempre a mi lado y llenarme de bendiciones, por la oportunidad de demostrar que puedo cumplir mis objetivos aun en medio de las dificultades, por los fracasos que enseñaron a encontrar un aprendizaje en medio del caos y las victorias que me mostraron que la humildad es el camino del éxito.*

*A mis amados padres Araceli Corona Zenil y Javier Martínez Montiel quienes siempre me apoyaron y me animaron a no rendirme. Por creer en mí. Gracias mamá, por siempre escucharme y tomarte el tiempo de aconsejarme cuando me quería rendir, por estar a mi lado en las dificultades y por todo el amor que siempre me has brindado. Gracias papá, tus palabras de ánimo, por recordarme que estas orgulloso de mi por siempre buscar la forma de ayudarme. Gracias por inspirarme a ser mejor cada día, soy muy bendecida de tenerlos como padres. Los amo y les estaré eternamente agradecida*

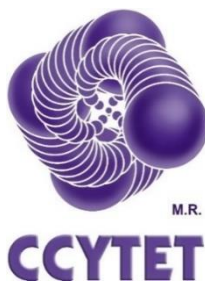
*A mi querido hermano Ari Javier Martínez Corona, por todo el apoyo que me ha brindado, por ser un gran ejemplo para mí de superación y éxito. Te amo mucho hermanito, gracias por tus consejos y por siempre estar a mi lado, por hacerme sentir que no estoy sola. You and me against the world! A Nina, Loki, Thor y Dalton mis amados perritos que son mi gran motivación y que llenan de alegría mi vida, los amo muchísimo.*

*A mí, Zurisadai Martínez Corona, por no rendirme, por soportar las dificultades físicas, de salud, mentales y emocionales. Por salir adelante en la adversidad y no dejarme vencer. Aprendí de mis errores y aciertos, a confiar en mis capacidades y creer que puedo. Estoy orgullosa de mí y hoy puedo decir “soy mejor que ayer”. TE AMO.*

## AGRADECIMIENTOS

Le agradezco al laboratorio de materiales avanzados de la División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez (DAMJM) y los laboratorios de Nanotecnología y de Bioensayos y Pruebas Medioambientales en el Centro de Investigación de Ciencia y Tecnología Aplicada del Estado de Tabasco (CICTAT) de la División Académica de Ingeniería y Arquitectura (DAIA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) por las facilidades brindadas.

De igual forma al proyecto PRODEP UJAT-PTC-260 por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Al proyecto PRODECTI 2022-01/75 otorgado a la Universidad Politécnica del Centro por parte del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Tabasco (CCYTET) y al CONACYT por el apoyo otorgado a través de la convocatoria FORDECYT-PRONACES/845101/2020 al proyecto DAMA-Descubrimiento acelerado de materiales antibioincrustantes.





## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. David Salvador García Zaleta por su paciencia al guiarme en este camino profesional, porque siempre estuvo dispuesto a apoyarme, enseñarme y despejar mis dudas. Por brindarme su confianza y la oportunidad de demostrar que, si puedo, por creer y confiar en mí, mis capacidades y potencial aun cuando a veces yo misma no creía en mí. Por brindarme todo lo necesario para realizar este proyecto, por su valiosa amistad y por ser mi mentor no solo profesionalmente sino en general al brindarme consejos de vida, por motivarme a superar los obstáculos y dificultades. Gracias por no dejarme rendir. ¡De corazón le agradezco todo! Lo admiro y lo respeto mucho.

Muchas gracias Dr. Rosendo López González por abrirme las puertas de su laboratorio, por ayudarme a salir adelante y guiarme en este proceso, por la disponibilidad y las facilidades en la realización de este proyecto. Por retarme a ser mejor cada día. Muchas gracias por tenerme paciencia y darme su confianza.

Gracias por siempre brindarme su apoyo junto con la Dra. Mayra Angelica Álvarez Lemus a quien también agradezco de corazón su valioso apoyo y por esa chispa y entusiasmo que le caracteriza, por siempre estar dispuesta a apoyar a sus alumnos para ser mejores y por la buena disposición de escucharme. Agradezco por incluirme en las actividades del laboratorio y hacerme sentir parte de ustedes. Siempre he pensado que son un equipo maravilloso que se complementa muy bien y les admiro por siempre salir adelante.

Le agradezco al Dr. Sergio Alberto Gómez Cornelio por todo el apoyo que me ha brindado, por ser un excelente guía, por enseñarme con mucha paciencia. Gracias por motivarme a ser mejor y a retarme para superar los obstáculos, agradezco su disposición al despejar mis dudas y por el tiempo y dedicación invertido. Le admiro mucho Dr. por ser siempre directo y sincero en busca de la mejora de sus estudiantes. Me dio mucho gusto haber compartido este proyecto con usted, aprendí muchísimo.

Del mismo modo, agradezco a todos los doctores, doctoras y compañeros alumnos del laboratorio de nanotecnología, gracias por su apoyo y por la amistad brindada, me sentí bienvenida y aceptada, tuve la oportunidad de hacer nuevos amigos y conocer a cada uno. Gracias por ayudarme en las actividades, despejar mis dudas y hacerme pasar momentos de convivencia muy agradables.

Agradezco de corazón a todas las personas que estuvieron involucradas en la realización y culminación de este proyecto, sin ustedes esto no habría sido posible, les aprecio sinceramente.

Fue un largo y difícil camino, pero hoy por hoy puedo decir con orgullo, ¡LO LOGRÉ!

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## RESUMEN

En el presente trabajo se sintetizaron nanomateriales de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) por el método sol-gel con combinación de fases (anatasa y rutilo) mediante el control de la temperatura, realizando tratamientos a 425, 475, 525 y 575°C. Los materiales de óxido de cobre ( $\text{CuO}$ ) se obtuvieron por el método Pechini. También se realizó una mezcla mecánica de  $\text{TiO}_2/\text{CuO}$  en proporción 1:1. Las propiedades antimicrobianas de los materiales se evaluaron para determinar su potencial aplicación en la industria de la construcción, específicamente para inhibir la formación de biopelículas en superficies. Los resultados de difracción de rayos X (DRX) y la técnica de Refinamiento Rietveld muestran que la fase rutilo aumenta, teniendo 8.42% a 425°C y 91.65% a 525°C y la fase anatasa disminuye al incrementar la temperatura, pasó de 93.58% en 425°C a 8.35% en 525°C. En los materiales de  $\text{CuO}$  se observó la fase tenorita y en los composites hay una combinación de fases anatasa, rutilo y tenorita, la presencia de la fase tenorita favoreció en la respuesta antimicrobiana de los materiales. Los espectros de FTIR (espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier) mostraron la presencia de señales correspondientes a las vibraciones de Ti-O y de Cu-O en  $\sim 530 \text{ cm}^{-1}$  observando ligeros cambios respecto a los materiales obtenidos por sol-gel, mientras que los obtenidos por mezcla mecánica no presentaron cambios importantes con respecto a la temperatura. Con los análisis DLS y ELS se obtuvo el tamaño promedio de partícula con valores desde  $\sim 225 \text{ nm}$  a  $\sim 750 \text{ nm}$  con potencial Z entre  $-11 \text{ mV}$  y  $-21 \text{ mV}$ . Finalmente, en las evaluaciones de MIC se encontró que el material de  $\text{CuO}/\text{TiO}_2$  a 475°C tuvo mayor actividad inhibitoria para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* con respecto a los otros materiales de  $\text{CuO}/\text{TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$  y  $\text{CuO}$ . Este material inhibe la formación de biopelículas en superficies, evitando la proliferación de las bacterias al ambiente.

**Palabras clave:**  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{CuO}$ , biopelícula, actividad antimicrobiana, superficies construidas.

## ABSTRACT

In the present work, titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ) nanomaterials were synthesized by the sol-gel method with a combination of phases (anatase and rutile) by temperature control, performing treatments at 425, 475, 525 and 575°C. Copper oxide (CuO) materials were obtained by the Pechini method. A mechanical  $\text{TiO}_2/\text{CuO}$  mixture was also performed in a 1:1. The antimicrobial properties of the materials were evaluated to determine their potential application in the construction industry, specifically to inhibit the formation of biofilms on surfaces. The X-ray diffraction (XRD) and Rietveld Refinement technique results show that the rutile phase increases, from 8.42% at 425°C to 91.65% at 525°C and the anatase phase decreases with increasing temperature, from 93.58% at 425°C to 8.35% at 525°C. In CuO materials, the tenorite phase was observed and in the composites there is a combination of anatase, rutile and tenorite phases, the presence of the tenorite phase favored the antimicrobial response of the materials. The FTIR spectra (Fourier transform infrared spectroscopy) showed the presence of signals corresponding to the vibrations of Ti-O and Cu-O at  $\sim 530 \text{ cm}^{-1}$  observing slight changes with respect to the materials obtained by sol-gel, while those obtained by mechanical mixing didn't present important changes with respect to temperature.

With DLS and ELS analyses, the average particle size was obtained with values from  $\sim 225 \text{ nm}$  to  $\sim 750 \text{ nm}$  with Z potential between  $-11 \text{ mV}$  and  $-21 \text{ mV}$ . Finally, in the MIC evaluations, it was found that the  $\text{CuO}/\text{TiO}_2$  material at 475°C had greater inhibitory activity for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* compared to the other  $\text{CuO}/\text{TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$  and CuO materials. This material inhibits the formation of biofilms on surfaces, preventing the proliferation of bacteria into the environment.

**Keywords:**  $\text{TiO}_2$ , CuO, biofilm, antimicrobial activity, constructed surfaces.

# CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS .....	III
ÍNDICE DE TABLAS .....	V
<b>CAPÍTULO 1: GENERALIDADES</b>	
Introducción .....	1
1.1 Justificación.....	3
1.2 Pregunta de investigación.....	4
1.3 Hipótesis .....	4
1.4 Objetivo general .....	4
1.4.1 Objetivos específicos.....	4
<b>CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO</b>	
2.1 Propiedades inhibitorias de los óxidos metálicos .....	6
2.2 Dióxido de titanio (TiO <sub>2</sub> ) .....	8
2.3 Óxido de Cobre.....	10
2.4 Método Sol Gel .....	12
2.5 Superficies construidas .....	14
2.5.1 Edificios enfermos.....	14
2.6 Bacterias .....	15
2.6.1 <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> .....	15
2.6.2 Formación de biopelícula como mecanismo de resistencia bacteriana .....	16
2.7 Técnica de microdilución.....	17
<b>CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
3.1 Síntesis de Nanopartículas deTiO <sub>2</sub> .....	19

3.2 Síntesis de Nanopartículas de CuO.....	21
3.3 Síntesis de Composito de CuO/TiO <sub>2</sub> .....	22
3.4 Análisis por Difracción de Rayos X.....	23
3.5 Refinamiento Rietveld.....	23
3.6 Análisis por microscopia electrónica de barrido (MEB) .....	23
3.7 Espectroscopía de infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR-ATR) .....	23
3.8 Dispersión de luz dinámica (DLS) y dispersión de luz electroforética (ELS) .....	24
3.9 Actividad antimicrobiana mediante el método de microdilución .....	24
3.9.1 Preparación de la suspensión de nanomateriales.....	24
3.9.2 Metodología del método de microdilución .....	25
<b>CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
4.1 Difracción de rayos X.....	27
4.2 Refinamiento Rietveld.....	31
4.3 Análisis por microscopia electrónica de barrido (MEB).....	38
4.4 Espectroscopía de infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR-ATR) .....	40
4.5 Dispersión de luz dinámica (DLS) y dispersión de luz electroforética (ELS) .....	44
4.6 Actividad antimicrobiana mediante el método de microdilución .....	47
<b>CONCLUSIONES</b> .....	51
<b>RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS</b> .....	53
<b>REFERENCIAS</b> .....	54
<b>ANEXOS</b> .....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Mecanismo de efecto fotocatalítico del TiO <sub>2</sub> .	9
2	Rutas del daño a las células por nanopartículas de CuO.	11
3	Etapas del método sol-gel.	13
4	Esquema general de las etapas del procedimiento de Síntesis de las nanopartículas de TiO <sub>2</sub> .	20
5	Esquema general de las etapas del procedimiento de Síntesis de las nanopartículas de CuO.	21
6	Esquema general de las etapas del procedimiento de Síntesis del composito CuO/TiO <sub>2</sub> .	22
7	Esquema general del ensayo de microdilución para determinar MIC.	25
8	Patrón de difracción de rayos X de los materiales de TiO <sub>2</sub> a diferentes temperaturas con fase anatasa y rutilo.	27
9	Patrón de difracción de los planos (101) y (110) de anatasa y rutilo en los materiales de TiO <sub>2</sub> a diferentes temperaturas.	28
10	Patrones de difracción de rayos X de los materiales a diferentes temperaturas de CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> .	29
11	Patrón de difracción de los planos (11-1) y (111) fase tenorita de los materiales de CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> .	30
12	Modelo de refinamiento Rietveld, composición, porcentaje de fases y posiciones de Bragg de TiO <sub>2</sub> a 475°C.	32
13	Modelo de refinamiento Rietveld, composición, porcentaje de fases y posiciones de Bragg del CuO.	33
14	Modelo de refinamiento Rietveld, composición, porcentaje de fases y posiciones de Bragg de CuO/TiO <sub>2</sub> a 475°C	33
15	Tamaño de cristalito de las fases anatasa y rutilo de los materiales de TiO <sub>2</sub> a diferentes temperaturas.	35
16	Tamaño de cristalito de las fases anatasa, rutilo y tenorita de los materiales de TiO <sub>2</sub> , CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> a diferentes temperaturas.	37

17	a) Micrografía y b) EDS correspondiente a las nanopartículas de TiO <sub>2</sub> a 475°C	38
18	a) Micrografía y b) EDS correspondiente a las nanopartículas de CuO/TiO <sub>2</sub> a 475°C	39
19	Espectros FTIR-ATR de los materiales de TiO <sub>2</sub> , calcinados a diferentes temperaturas.	40
20	Acercamiento a la banda del enlace Ti-O de los materiales de TiO <sub>2</sub> , calcinados a diferentes temperaturas.	41
21	Espectros FTIR-ATR de los materiales de CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> , a diferentes temperaturas.	42
22	Acercamiento a la banda del enlace Cu-O de los materiales de CuO/TiO <sub>2</sub> , calcinados a diferentes temperaturas.	43
23	Diámetro hidrodinámico de los materiales de TiO <sub>2</sub> , a diferentes temperaturas.	44
24	Diámetro hidrodinámico de los materiales de CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> , a diferentes temperaturas.	45
25	Ensayo de microdilución para determinar el MIC de los materiales de CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> , a diferentes temperaturas con colorante TTC.	47
26	Ensayo de microdilución para determinar el MIC de los materiales de TiO <sub>2</sub> , a diferentes temperaturas con colorante TTC.	48



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
I	Resultados del refinamiento Rietveld de los materiales de TiO <sub>2</sub> , CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> .	34
II	Tamaño de cristalito de las fases anatasa y rutilo de los materiales de TiO <sub>2</sub> a diferentes temperaturas.	35
III	Tamaño de cristalito de las fases anatasa, rutilo y tenorita de los materiales de CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> a diferentes temperaturas.	36
IV	Elementos y distribución de % de masa de las nanopartículas de TiO <sub>2</sub> a 475°C	38
V	Elementos y distribución de % de masa de las nanopartículas de CuO/TiO <sub>2</sub> a 475°C	39
VI	Resultados de DLS y ELS de los materiales de TiO <sub>2</sub> , CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> .	46
VII	Resultados de MIC en los materiales de CuO y CuO/TiO <sub>2</sub> .	49

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

**CAPÍTULO**  
**1**  
**GENERALIDADES**

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las cepas de microorganismos resistentes a los procesos de desinfección tradicionales han aumentado [1]. Esto ha impactado de manera contundente en diversas áreas relacionadas a la salud, entre las que destacan el área farmacéutica y biomédica. Sin embargo, también ha impactado al área de alimentos y la construcción, ya que se ha detectado que las bacterias emplean como mecanismo de supervivencia la formación de biopelículas en las superficies. Esto a fin de propiciar un ambiente que les permita la reproducción/proliferación y mecanismos de protección para tolerar las moléculas con actividad antimicrobiana que se utilizan de forma cotidiana como OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, entre otras.

En este sentido, existen diversas características y microhábitats en la superficie construida que les permiten a estos microorganismos desarrollar esta resistencia o tolerancia, entre las cuales se destacan; adaptabilidad en ambientes con variaciones de temperatura, pH, espacios en la superficie del material donde pueden resguardarse como poros o pintura, así como a nivel celular en la disminución de la permeabilidad de la membrana y la flexibilidad genética [2]. Una biopelícula se podría definir como la acumulación organizada de bacterias en una matriz adherida a una superficie viva o inerte como las superficies construidas: cemento, madera, acero, plástico, entre otros. La biopelícula está protegida por una cubierta polisacárida, que al romperse libera bacterias al ambiente que pueden infectar a las personas que entren en contacto [3]. Estos focos de infección se pueden presentar en entornos cerrados, con falta de ventilación, presencia de humedad, etc., y superficies (comúnmente de edificios) causando el síndrome de edificio enfermo (SEE). Además de generar problemas estéticos en los edificios lo cual requiere de inversión económica para su restauración. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera prioritarias las infecciones que causan a la salud de las personas estos patógenos que se desarrollan en los SEE [4].

Las bacterias emplean la formación de biopelículas como una estrategia de supervivencia, al reproducirse comparten su información genética y resistencia a diferentes fármacos, dificultando el proceso de recuperación de los pacientes que han estado en contacto con estos microorganismos. Entre las bacterias más reportadas con resistencia a los procesos de desinfección y formadoras de biopelículas destaca; *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [5,6]. También han sido reportadas entre las principales bacterias patógenas que causan infecciones severas en las personas [7, 8].

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 1.1 Justificación

A nivel mundial, una estrategia prometedora en la inhibición de bacterias ha sido nanotecnología mediante la aplicación de materiales a base de óxido de cobre (CuO) y dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) [1]. En este sentido, el TiO<sub>2</sub> ha presentado resultados interesantes, se han reportado nanoestructuras de TiO<sub>2</sub> con fase anatasa y titanio en forma de nanobarras, con actividad contra bacterias Gram negativas y Gram positivas [9]. Del mismo modo, el CuO ha demostrado tener buenas propiedades bactericidas contra *E. coli* y *S. aureus* [7] con una mayor actividad antimicrobiana contra *S. aureus*. Por otro lado, nanobarras de CuO y composites de CuWO<sub>4</sub>/CuO fueron evaluados contra *E. coli* y *Puccinia graminis* encontrando que el composite CuWO<sub>4</sub>/CuO presenta mayor actividad bactericida [10].

Es importante mencionar que, algunas investigaciones han combinado estos dos óxidos [6, 11], obteniendo una mejora en la actividad antimicrobiana, atribuyendo esta actividad a su estructura y área superficial, sin embargo, existen otros factores que pueden promover la actividad antimicrobiana contra las bacterias; como la presencia de diferentes fases en una misma estructura en el caso del TiO<sub>2</sub>. Las diversas investigaciones reportan principalmente la fase anatasa, no obstante, el titanio presenta otras fases como rutilo y brookita las cuales en muchas ocasiones se excluyen y puede tener un efecto significativo en la actividad antimicrobiana. Por consiguiente, en el presente trabajo se sintetizaron nanomateriales de TiO<sub>2</sub> y CuO y una combinación mecánica de TiO<sub>2</sub>/CuO con diferentes porcentajes de las fases; anatasa, rutilo y tenorita por medio del control de la temperatura de calcinación, para determinar la actividad antimicrobiana del cobre y titanio solos y combinados para evaluar la influencia de las fases del titanio en la actividad antimicrobiana del cobre y sus posibles aplicaciones en la industria de la construcción, con el propósito de emplear a corto plazo estos materiales en superficies construidas, como un método eficiente en la inhibición de formación de biopelículas por bacterias que causan problemas en la salud de los habitantes de los edificios, otorgando la categoría de síndrome de edificio enfermo.

## 1.2 Pregunta de investigación

¿Es posible mejorar la capacidad de inhibición de biopelículas de *E. coli* y *S. aureus* y potenciar las propiedades antimicrobianas del CuO y TiO<sub>2</sub> al combinar ambos óxidos con diferentes porcentajes de fases cristalinas?

## 1.3 Hipótesis

Las propiedades antimicrobianas del CuO y TiO<sub>2</sub> serán potencializadas al combinar ambos óxidos con diferentes porcentajes de fases cristalinas, mejorando su capacidad de inhibición de biopelículas en *E. coli* y *S. aureus*.

## 1.4 Objetivo General

Evaluar distintos porcentajes de fases cristalinas en nanomateriales de CuO y TiO<sub>2</sub> en su capacidad de inhibir biopelículas de *E. coli* y *S. aureus* como potenciales aditivos en superficies construidas.

### 1.4.1 Objetivos Específicos

- ✓ Establecer los parámetros de síntesis para controlar los porcentajes de las fases cristalinas de TiO<sub>2</sub> en nanomateriales de CuO/TiO<sub>2</sub>.
- ✓ Analizar el efecto de la temperatura de calcinación en las propiedades estructurales, espectroscópicas y electrocinéticas de los nanomateriales de CuO/TiO<sub>2</sub>.
- ✓ Determinar la influencia de los porcentajes de las fases cristalinas del TiO<sub>2</sub> en la actividad inhibitoria de nanomateriales de CuO/TiO<sub>2</sub> contra *E. coli* y *S. aureus*.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

**CAPÍTULO**

**2**

**MARCO TEÓRICO**

## 2.1 Propiedades inhibitorias de los óxidos metálicos

Se le conoce como materiales inhibitorios a aquellos materiales que generan un efecto bacteriostático o que detienen el proceso de reproducción en microorganismos patógenos, garantizándose la disminución o eliminación de estos [12]. Hoy en día, la nanotecnología presenta un amplio espectro de nuevas posibilidades, ofrece técnicas que permiten la síntesis de materiales con propiedades antimicrobianas ya que el método de síntesis está ampliamente relacionado con el comportamiento fisicoquímico y las propiedades de los materiales [13].

Desde hace tiempo, son muy conocidos los nanomateriales con propiedades antimicrobianas para combatir microorganismos [14], entre los cuales destacan las nanopartículas de Ag, CuO, ZnO y TiO<sub>2</sub>. Sin embargo, algunas de ellas no son de amplio espectro y presentan algunas desventajas como: poca estabilidad, grandes tamaños de partículas, baja área superficial, métodos de síntesis que dificultan el control de la estequiometría exacta, daño a la salud, entre otros. Un ejemplo son las nanopartículas de Ag, las cuales pueden llegar a ser tóxicas [15]. Los óxidos metálicos como el TiO<sub>2</sub> y el CuO han demostrado tener un alto índice de efectividad bactericida ante bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas, como *E. coli* y *S. aureus*. Esto, gracias a su composición atómico-molecular y su eficiente estabilidad al estar en contacto con sistemas biológicos y bioseguridad [16].

Se ha demostrado que algunas células responden de forma muy diferente a las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> anatasa y rutilo [17]. Derivado de estas diferencias observadas, se ha generado la necesidad de evaluar el efecto de las fases cristalinas en las interacciones con bacterias.

Entre los estudios realizados se encuentra el reportado por Tekin *et al* [18] quienes desarrollaron nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, así como compositos de PVA/TiO<sub>2</sub> y PEG/TiO<sub>2</sub>, evaluando sus propiedades bactericidas en *E. coli*. En sus resultados encontraron que el composito PEG/TiO<sub>2</sub> con fase anatasa mostró una mejor respuesta al eliminar la bacteria Gram negativa en comparación con las nanopartículas que se evaluaron de forma individual.



Por otro lado, Maheswari *et al* [5] sintetizaron nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  con fase anatasa y brookita, comparando con nanopartículas del mismo tipo, pero obtenidas empleando extractos, de jengibre, ajo, y jengibre-ajo evaluando sus propiedades bactericidas contra *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutants*, *E. coli* y *S. aureus*. En sus resultados se presentan respuestas diversas ante las diferentes bacterias, sin embargo, los compuestos combinados con agentes naturales demostraron una mejor eficiencia.

Por otra parte, se sintetizaron compuestos de  $\text{ZnO-TiO}_2$  [19], a diversos porcentajes (85-15,75-25,65-35%) manteniendo en el  $\text{TiO}_2$  la fase anatasa, tamaños de cristal menores a 50 nm y evaluando sus propiedades bactericidas en *E. coli*. De sus resultados destaca que el compuesto  $\text{ZnO-TiO}_2$  con fase anatasa tuvo mejor respuesta en la eliminación de la bacteria con tamaño promedio de 10 nm.

Se ha reportado la obtención de un compuesto con nanohojas de  $\text{CuO}$  y óxido de grafeno (GO) para mejorar la actividad bactericida en celulosa bacteriana (BC) [20], demostrando que los compuestos de  $\text{BC/GO-CuO}$  tienen una buena respuesta bactericida contra Gram positivas y Gram negativas como *S. aureus* y *E. coli*. Mientras que, la funcionalización de nanopartículas de cobre ( $\text{CuO}$ ) y zinc ( $\text{ZnO}$ ) [8] con alginato de sodio y quitosano demostró un 60% de inhibición en la oscuridad y un 90% bajo irradiación de luz contra *S. aureus* y *E. coli*.

Liu *et al* [21] desarrollaron compuestos de  $\text{NiP/CuO}$  donde concluyen que el Ni-P promueve la transferencia de electrones, acelera la separación de pares electrón-hueco para la actividad fotocatalítica y tiene una relación con el desempeño bactericida debido a un incremento en la actividad contra *E. coli*. Pragathiswaran [1] desarrolló compuestos de  $\text{TiO}_2@\text{ZnO}$  con fase anatasa y rutilo, y los decoró con nanopartículas de oro. Las propiedades bactericidas fueron evaluadas en *E. coli* y *S. aureus* en proceso *in vitro*, encontrando que las nanopartículas fueron efectivas en la eliminación de estos agentes patógenos. Es importante mencionar que, en la literatura se menciona que el  $\text{TiO}_2$  presenta actividad antimicrobiana, sin embargo, la mayoría de los artículos que se encuentran disponibles, el dióxido de titanio presenta combinación de la fase anatasa con la fase rutilo o brookita, lo que permite suponer efectos sinérgicos de las mezclas de fase [22-23].

La transformación de fase de anatasa al rutilo conlleva los cambios en la estructura electrónica que es responsable de las propiedades químicas de la superficie de  $\text{TiO}_2$  que afecta su comportamiento biológico. Además, el  $\text{TiO}_2$  tiene otras fases como la monoclinica y la brookita, que poseen características estructurales diferentes.

Algunos estudios [8, 11] señalan que hay una mejora en las propiedades de materiales con fases cristalinas mixtas en diferentes porcentajes, pero hasta ahora el análisis de estas propiedades ha sido poco explorado y los resultados no son concluyentes.

En la síntesis del  $\text{TiO}_2$ , la formación inicial de la fase cristalina depende significativamente de las condiciones y parámetros del proceso. El control de las condiciones de síntesis afecta la cinética de la transformación de las fases. Incluso cambios menores en los parámetros del proceso pueden provocar cambios de rendimiento en la fase cristalina [5, 6].

El  $\text{CuO}$  el cual también es conocido por sus propiedades inhibitorias, entre las cuales destaca su capacidad para: destruir o alterar los ácidos nucleicos (ADN), provocando que las células pierdan su capacidad de multiplicarse [14], además de alterar la permeabilidad de su membrana celular.

## 2.2 Dióxido de Titanio ( $\text{TiO}_2$ )

El dióxido de titanio es un material que destaca por su bajo costo y biocompatibilidad, es un compuesto inorgánico que se encuentra de forma natural y abundante en tres fases cristalinas: rutilo, anatasa y la brookita.

La brookita y la anatasa son fases metaestables, mientras que el rutilo es un material termodinámicamente muy estable [24]. El valor de ancho de banda prohibida de anatasa es de 3.2 eV y para rutilo es de 3.0 eV.

A temperaturas de  $\sim 300$  a  $\sim 700^\circ\text{C}$  se puede obtener la fase anatasa, esta posee una estructura tetragonal con grupo espacial  $141/\text{amd}$  y tiene los siguientes parámetros de red:  $a/b = 3.783\text{\AA}$  y  $c = 9.510\text{\AA}$ . La celda unitaria se conforma de 4 átomos de titanio y 8 átomos de oxígeno con su pico representativo en el plano (110) y en  $\sim 25.354$  en  $2\theta$  de acuerdo con el PDF 00-004-0477 (anexo 1). Por otro lado, la fase rutilo se obtiene a temperaturas a partir de  $\sim 500^\circ\text{C}$  y posee una estructura tetragonal con

grupo espacial  $p42/mnm$  y tiene los siguientes parámetros de red:  $a/b= 4.594\text{\AA}$  y  $c= 2.958\text{\AA}$  se conforma de 2 átomos de Ti y 4 átomos de oxígeno con su pico representativo en el plano (110) en  $\sim 27.463$  en  $2\theta$  de acuerdo con el PDF 00-004-0551 (anexo 2). Los datos estructurales de la fase anatasa y rutilo anteriormente descritos pertenecen a los materiales de  $\text{TiO}_2$  sintetizados en este proyecto de acuerdo con la indexación de los espectros de DRX.

En la Figura 1 se muestra la formación de pares electrón-hueco ( $e^-/h^+$ ) generando radicales libres muy reactivos que interaccionan con su entorno, generando un proceso de óxido-reducción hasta convertirlos en especies menos reactivas por acción de la luz ultravioleta que promueve que el electrón pase de la banda de valencia a la banda de conducción.

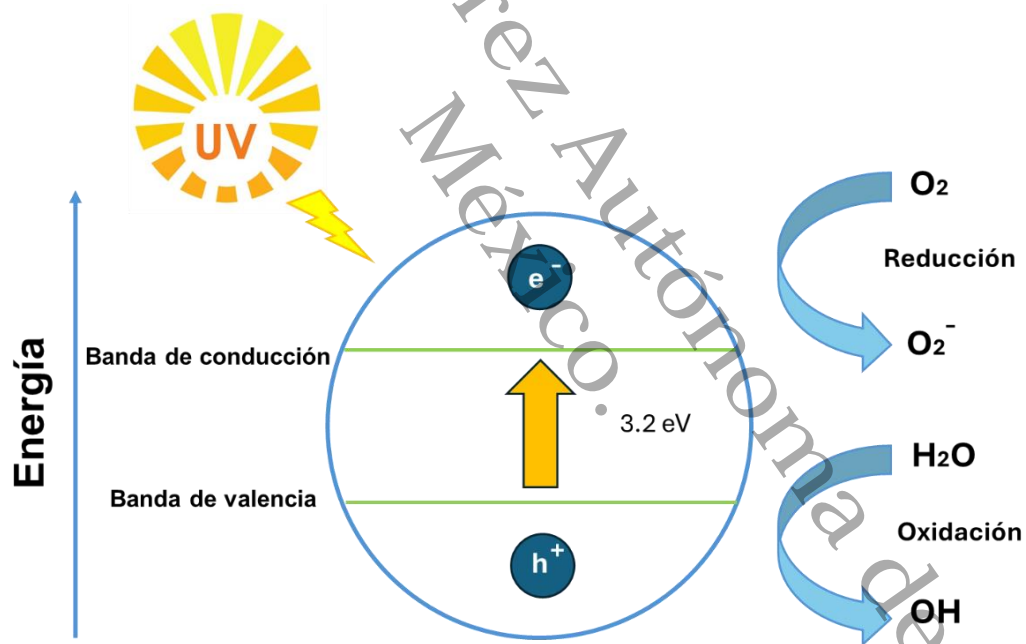


Figura 1. Mecanismo de efecto fotocatalítico del  $\text{TiO}_2$ . Modificado de [24].

Esta propiedad es de mucho interés en sistemas biológicos, ya que se generan en el proceso de fotocatalisis provocado por la radiación UV, en este se desarrollan radicales de oxígeno y moléculas de oxígeno monoatómicas y triatómicas, que se convierten en promotores de la acción bactericida.

Estas moléculas al estar en contacto con las bacterias son capaces de generar daño celular en las bacterias, ya que puede afectar la peroxidación de fosfolípidos de la membrana celular e interrumpir su proceso de respiración, inactivándola y deteniendo su crecimiento, produciendo muerte celular [25]. Todo esto a partir de la fotoactivación del titanio con luz ultravioleta, ya que se ha reportado que mejora sus propiedades antimicrobianas al ser fotoactivado [23].

Por otro lado, se ha reportado que el titanio mantiene su propiedad antimicrobiana sin presencia de luz UV [26, 27], atribuyendo que los ROS se pueden producir por diversos mecanismos como, la interacción entre las nanopartículas y las macromoléculas de las células (fosfolípidos, lipoproteínas, entre otras), las cuales causan daño provocando la muerte celular. Este estudio sugiere que la diferencia de cargas es la que provoca esta acción, ya que los compuestos de la membrana celular de los microorganismos tienen carga positiva y la nanopartícula carga negativa y al entrar en contacto, la célula se oxida y muere. Sin embargo, se han presentado diversas opiniones al respecto, que dejan expuesta la necesidad de seguir investigando al respecto, por lo cual en la presente investigación se comprobará la efectividad de las nanopartículas de titanio sin fotoactivación, y analizar si mantiene sus propiedades antimicrobianas aun sin la presencia de luz ultravioleta.

### **2.3 Óxido de Cobre**

El cobre es un metal que desde hace muchos años ha sido estudiado por su actividad inhibitoria en microorganismo, esto se debe a que el cobre tiene en su capa externa un electrón libre, que puede reaccionar fácilmente.

Por su parte, el cobre y el oxígeno al combinarse forman CuO el cual es el que presenta mayor número de oxidación, este mineral se encuentra de manera abundante en la naturaleza.

La fase tenorita posee una estructura monoclinica con grupo espacial A2/a y tiene los siguientes parámetros de red:  $a = 5.133\text{Å}$ ,  $b = 3.423$  y  $c = 4.688\text{Å}$ , se conforma de 4 átomos de cobre y 4 átomos de oxígeno con sus picos representativos en el plano (002) y en  $\sim 35.417$  en  $2\theta$  y (111) en  $\sim 38.708$  de acuerdo con el PDF 00-048-1548 (anexo 3).

Este semiconductor tiene un ancho de banda prohibida de 1.2 eV. Una de las características principales de las nanopartículas de CuO es la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), este material al entrar en contacto directo con el microorganismo, cambia la permeabilidad de la pared y membrana celular por la interacción con los iones de Cu, abriendo paso para que las nanopartículas puedan ser liberadas en el interior de la célula generando toxicidad y estrés oxidativo las cuales dañan compuestos y estructuras que son de vital importancia para la supervivencia de la célula, como: ADN, enzimas, proteínas, membrana, entre otras, lo cual les impide replicarse [28].

En la Figura 2 se muestra el daño celular causado por las nanopartículas de CuO.

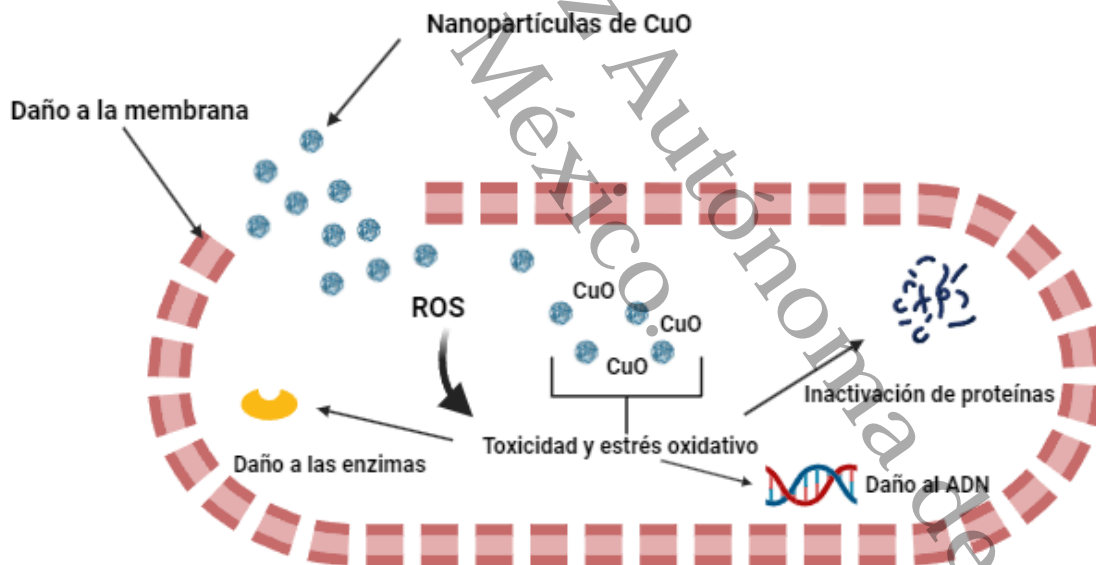


Figura 2. Rutas del daño a las células por nanopartículas de CuO [28].

## 2.4 Método Sol Gel

El sol-gel es una metodología que ha sido ampliamente reportada por su versatilidad, el cual además favorece la obtención de materiales con alta homogeneidad ofreciendo un alto control de las propiedades debido a los diferentes parámetros de síntesis que pueden ser modificados.

En este sentido, el método sol-gel ha resultado de gran utilidad para controlar las fases cristalinas de materiales como el  $\text{TiO}_2$ , característica que produce resultados variados en áreas como la catálisis o en aplicaciones biológicas. Es un método de síntesis químico para la producción de materiales sólidos, especialmente óxidos metálicos [29]. Se lleva a cabo en una suspensión coloidal de partículas donde el precursor puede ser un metal alcóxido, como un aluminato, o una sal para obtener óxidos.

Esta metodología comúnmente se conforma de 4 etapas:

1. Hidrólisis
2. Policondensación
3. Secado
4. Descomposición

llevando a cabo reacciones inorgánicas poliméricas (Figura 3). Se inicia con la etapa del sol, que es una solución coloidal, para posteriormente pasar a la etapa del gel, cuando ya los precursores y solventes se solidifican, este gel coloidal o xerogel se somete a un proceso de secado para la evaporación de los líquidos y formación de cristales con mayor consistencia. Cuando se obtiene el material deseado, en este caso los polvos previamente molidos, los materiales se someten a un tratamiento térmico, esta variación de temperatura influye en la formación de las fases cristalinas de los materiales de  $\text{TiO}_2$  y la obtención de la fase tenorita del  $\text{CuO}$ .

Una de las mayores ventajas de emplear el método sol-gel para la creación de materiales para uso con actividad biológica es que este método nos permite crear materiales con bases hidrogenadas que funcionan como un ancla al momento de incorporar el precursor y así los iones de este puedan presentar una morfología estable y la superficie pueda ser más reactiva. Las dispersiones de nanopartículas son termodinámicamente

metaestables, debido a su elevada área superficial, lo que representa una contribución positiva a la entalpía libre del sistema [30].

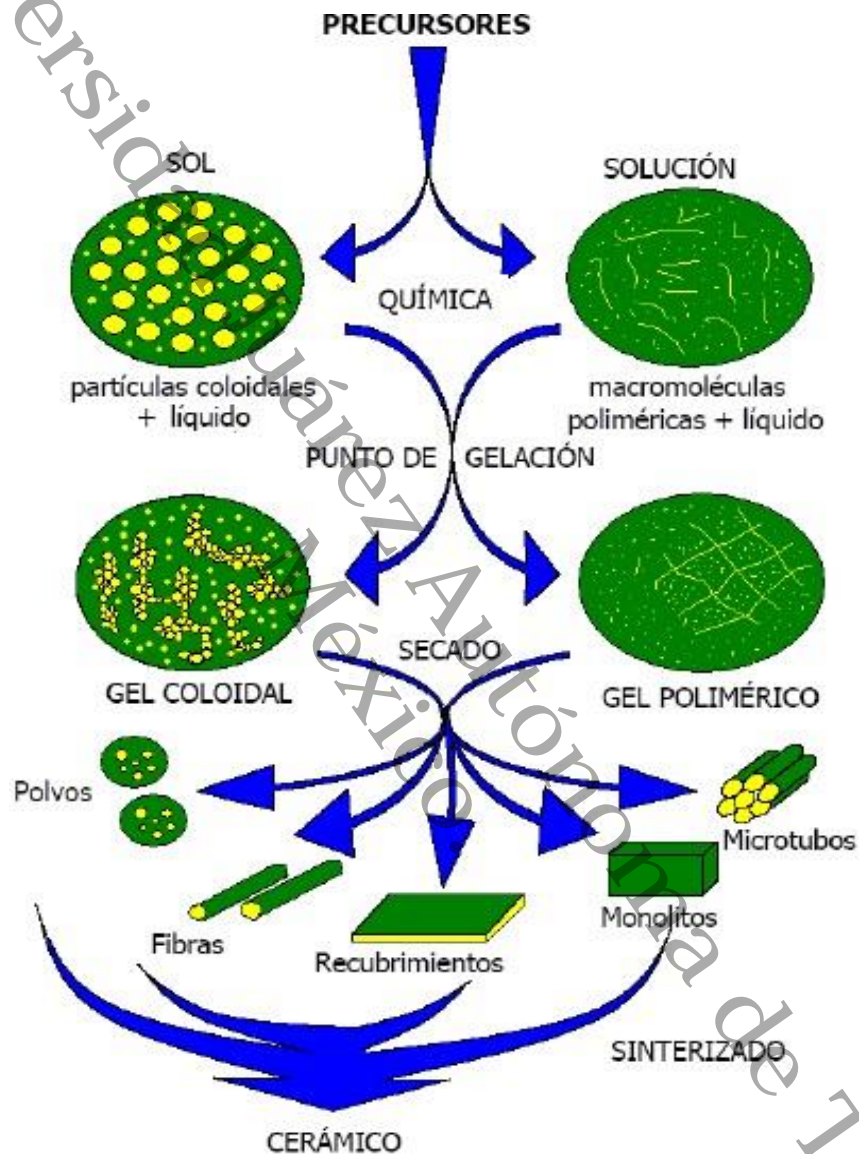


Figura 3. Etapas del método sol-gel [29].

El método Pechini es una variante del método sol-gel por vía húmeda, permite obtener materiales con amplia homogeneidad. Se caracteriza por la distribución homogénea de cationes metálicos en una resina precursora que inhibe su segregación y precipitación [31].

## **2.5 Superficies construidas.**

La industria de la construcción está constantemente innovando estrategias que mejoren la calidad de sus materiales, como la incorporación de la nanotecnología en sus procesos de creación y desarrollo de materiales, con la finalidad de mejorar sus propiedades entre las que destacan la durabilidad, resistencia a la corrosión y fisuración, etc.

Una de las estrategias que ya se están empleando es la adición de nanopartículas en el cemento. Las nanopartículas actúan como un relleno de los huecos y poros presentes en el cemento, actuando, así como un núcleo activo que promueve la hidratación del material [32-34].

Entre las nanopartículas más destacadas se encuentran las de  $\text{TiO}_2$ , que, al ser un fotocatalizador, presenta las siguientes ventajas: capacidad de auto-limpieza, capacidad de eliminar agentes contaminantes en el medio ambiente como:  $\text{NO}_x$ ,  $\text{CO}_2$  (Fotocatálisis), en fachadas, pavimentos de carretera, entre otros.

Por lo que su uso en estos sustratos mejoraría la resistencia y durabilidad de las superficies construidas, contribuyendo a la economía circular.

### **2.5.1 Edificios enfermos**

En nuestra civilización, estamos rodeados de superficies construidas, edificios, carreteras, etc., y la mayor parte de nuestro tiempo lo pasamos en alguna construcción, ya sea, escuela, oficina, centro comercial, casas, por mencionar algunas. La mayoría son lugares cerrados que, si no cuentan con las condiciones adecuadas de ventilación y deshumidificación, se puede convertir en el ambiente ideal para la formación de biopelículas y proliferación de bacterias lo cual puede provocar síndrome de edificio enfermo.

Se denomina edificio enfermo (ya sea casa, oficina, escuela etc.) a la construcción donde hay presencia y aumento de individuos con padecimientos similares causados por microorganismos en tiempos prolongados. Esto a causa de la presencia de microorganismos en superficie que han formado biopelículas y se han reproducido hasta el punto de liberar las células al ambiente [35].



## 2.6 Bacterias

En microbiología se denomina bacterias Gram negativas a los microorganismos que se tiñen de color rosa en la prueba de tinción Gram. Esto debido a que no retienen el colorante de cristal violeta durante el proceso de coloración porque, presentan una capa delgada de peptidoglucano en su pared celular y en su capa externa está cubierta por una membrana de lipoproteínas [36].

Las bacterias Gram positivas, se tiñen de color violeta en la prueba de tinción Gram. Esta característica está ligada a la estructura de su envoltura celular, se comprende de una membrana citoplasmática y una pared celular compuesta por una capa gruesa de peptidoglucano debido a esta capa es responsable de retener el colorante violeta durante la tinción.

Las bacterias Gram negativas tienen una doble membrana plasmática, lo que las hace más resistentes ante la presencia de antibióticos, y por tanto más difíciles de permear [37].

Estas bacterias se adhieren a las superficies de los edificios y forman biopelículas como un mecanismo de supervivencia, donde se reproducen de forma inactiva. Sin embargo, al finalizar este proceso, pasan a la etapa de proliferación en el ambiente, llegando al huésped y atravesando las barreras de protección del cuerpo, causando enfermedades. Es por eso la importancia de mejorar los materiales de construcción que impidan la formación de estas biopelículas. Por lo cual, en este trabajo de investigación se eligieron dos modelos de bacterianos, uno Gram positivo (*S. aureus*) y otro Gram negativo (*E. coli*). Para estudiar la interacción de los materiales sintetizados en las diferentes morfologías. Además, estas bacterias forman parte del microbiota de los seres humanos y son las causantes más comunes de enfermedades en la población.

### 2.6.1 *E. coli* y *S. aureus*

En la naturaleza existe una amplia variedad de bacterias patógenas para el ser humano, causando enfermedades. El efecto patógeno varía mucho en función de especies y de la virulencia de este, y particularmente, en las condiciones en las que esté el organismo huésped [38, 39]. Entre los principales grupos de bacterias con estas características se encuentran: *E. coli* [40], que pertenece a las Gram negativas y tiene una morfología de

bacilos rectos, flagelados que les permite tener movilidad. Consta de membrana citoplasmática, membrana externa y un espacio periplásmico entre ambas membranas, constituido por peptidoglucano. Gracias a su morfología de la pared celular presenta alta resistencia a los agentes de desinfección y ambientes extremos [41]. Esta bacteria se encuentra en el sistema digestivo de los humanos como flora bacteriana, sin embargo, la mayoría de las cepas puede producir infecciones que se adquieren por el consumo de alimentos en mal estado o agua mal purificada. Su cuadro clínico presenta enfermedades gastrointestinales que incluyen evacuaciones de heces con sangre, lo que lleva a perforaciones intestinales que pueden provocar la muerte del huésped.

Por otro lado, *S. aureus* [42], es una bacteria que tiene una morfología de coco lisa y es inmóvil. Es una bacteria Gram positiva, anaerobia, coagulasa positiva, catalasa positiva y oxidasa negativa. *S. aureus* tiene un factor muy importante de virulencia y su capacidad de formar biopelículas, complicando su tratamiento de desinfección y contribuyendo a la resistencia bacteriana. Además, produce toxinas, las cuales se clasifican en 4 tipos: citotoxinas, enterotoxinas, toxinas exfoliativas y toxinas del choque tóxico [43]. Algunas de sus cepas presentan mayor capacidad para producir infecciones, esto gracias a una capsula externa mucoide. El cuadro clínico que presenta esta bacteria es, Infecciones cutáneas, neumonía, endocarditis, osteomielitis, entre otras, y puede llevar a la muerte.

### **2.6.2 Formación de biopelícula como mecanismo de resistencia bacteriana**

Existen diferentes mecanismos de resistencia bacteriana, uno de ellos es la intrínseca. Esta se desarrolla de manera natural en ausencia de mecanismos de presión de selección antimicrobiana (no hay exposición); de igual forma, existe la resistencia adquirida [44] la cual se va desarrollando por mutación o adquisición de nuevos genes. Desde que los antibióticos se introdujeron en la práctica clínica, obtuvo una de las intervenciones más importantes para el control de las enfermedades infecciosas [45]. Sin embargo, el uso excesivo de los antibióticos ha hecho que las bacterias sean más resistentes. Esto provoca que la eficiencia de los fármacos disminuya en sobremedida, provocando, retardando el tratamiento de los pacientes que han adquirido enfermedades por bacterias.

Otra barrera de defensa a los procesos de desinfección es la producción de biopelículas en una matriz extracelular. Esta capa es sintetizada por la misma bacteria compuesta por sustancias poliméricas extracelulares hidratadas (EPSs) tales como polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas, lo que les confiere una capa viscosa dificultando así la penetración de moléculas antibióticas [46]. Esta matriz extracelular es uno de los primeros estadios sucesionales en la formación de biopelículas. Al usar un material con una propiedad anti-biopelículas, estaríamos contribuyendo a la prevención de enfermedades por contacto.

La siguiente barrera se sitúa dentro de las células tanto en el citoplasma como en el ribosoma; en ésta, la célula modificara la toxina mediante reacciones redox o transferasas con la finalidad de desactivarla o hacerla menos competitiva por el sitio activo de unión. La última barrera es a nivel genético, ya que, es donde las bacterias regulan todos los mecanismos (barreras) antes mencionados. Además de regular la expresión genética con mutaciones, debido a que las bacterias pueden transmitir horizontalmente esos genes mediante plásmidos [47].

## **2.7 Técnica de microdilución**

La técnica de microdilución, consiste como su nombre lo dice, en hacer diluciones en pequeñas cantidades (por mitad) de los materiales a estudiar, para tener un estimado de la concentración mínima que tiene un efecto antimicrobiano. En esta investigación se empleó el método de microdilución en los materiales de CuO y TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas por separado y en combinación para conocer el efecto antimicrobiano de los materiales y cuál de ellos presenta mayor inhibición a bajas concentraciones.

La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) se refiere como la mínima concentración de antimicrobiano en µg/mL que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C [48].

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

**CAPÍTULO**

**3**

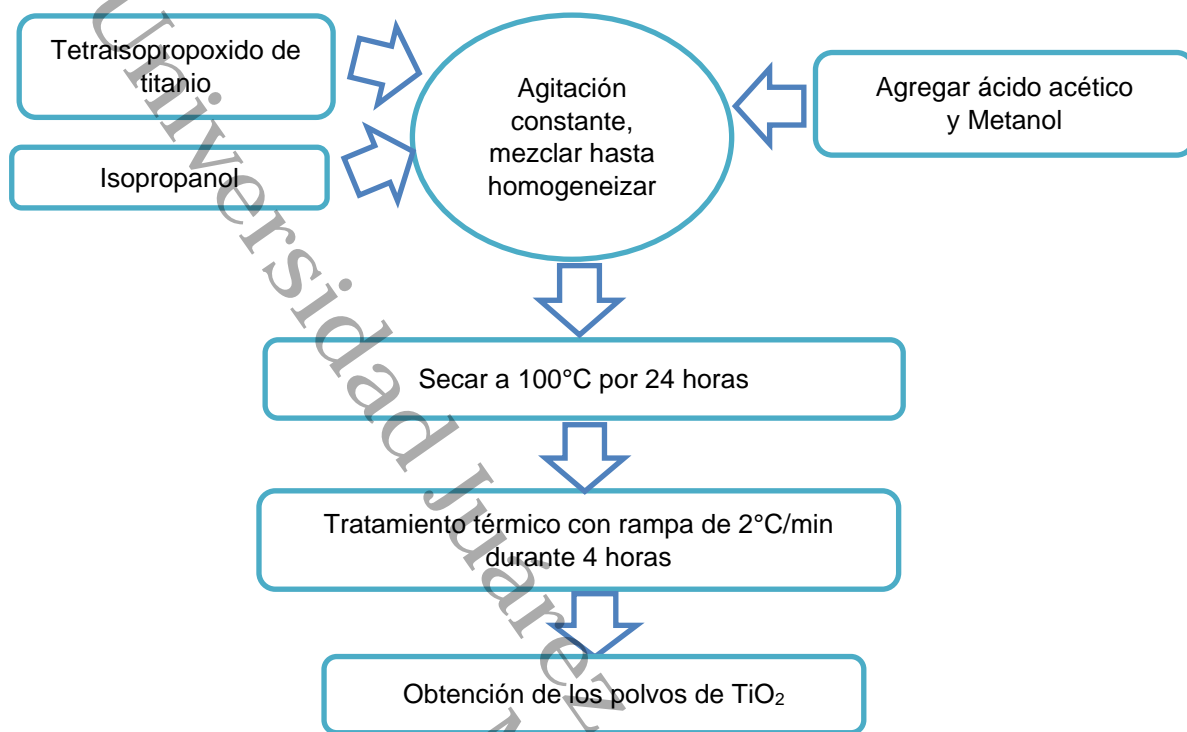
**MATERIALES Y  
MÉTODOS**

### 3.1 Síntesis de Nanomateriales de TiO<sub>2</sub>

Uno de los objetivos de este estudio es la obtención de materiales nanoestructurados de TiO<sub>2</sub> con combinación de fases anatasa y rutilo. La distribución del porcentaje presente en el material se modificó mediante el control de diferentes temperaturas de tratamiento: 425, 475, 525 y 575°C, empleando el método sol-gel con los siguientes reactivos: Tetra-isopropóxido de Titanio Ti[OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>4</sub> al 97%, isopropanol CH<sub>3</sub>CHOHCH<sub>3</sub> al 99.9%, ácido acético CH<sub>3</sub>COOH al 99.9%, metanol CH<sub>3</sub>OH al 99.9%.

La primera etapa de la síntesis consistió en la obtención del sol. Como primer paso, en un vaso de precipitado se agregaron el tetraisopropóxido de titanio e isopropanol en relación 3:1 respectivamente. La mezcla obtenida se mantuvo en agitación constante durante aproximadamente 5 min. Al mezclar estos compuestos se obtuvo una mezcla muy reactiva, por lo cual se agregó ácido acético como estabilizante y se agitó por 5 min. Una vez obtenida esta mezcla, se agregó metanol y se mantuvo en agitación constante durante 1 hora para la obtención de una mezcla transparente y estable.

La segunda etapa consistió en la obtención del xerogel, seguido de la etapa de envejecimiento, el sol se transforma en un gel húmedo con una apariencia transparente, el cual se sometió a un proceso de secado durante 24 h, a una temperatura controlada de 100°C, con la finalidad de evaporar los disolventes presentes en el material y así obtener el xerogel. Mediante un proceso de molienda manual en un mortero de ágata se homogenizaron los aglomerados de los cristales obtenidos en el xerogel y posteriormente se calcinaron con una rampa de 2°C/min durante 4 horas a 425, 475, 525 y 575°C para promover la densificación y cristalinidad del material. En la Figura 4 muestra un esquema de la síntesis realizada.



**Figura 4.** Esquema general de las etapas del procedimiento de Síntesis de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ .

### 3.2 Síntesis de Nanomateriales de CuO

Para la obtención de las nanopartículas de CuO se empleó el método Pechini. Este método es una variante del método sol-gel que nos permitió obtener la fase tenorita pura del CuO, el cual también se realizó mediante el control de la temperatura de tratamiento para evitar la presencia de Cu<sub>2</sub>O. Se emplearon los siguientes reactivos: Nitrato de cobre (II) Cu (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · xH<sub>2</sub>O al 99.9%, ácido cítrico C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> al 99.5 % y etilenglicol HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH al 99.8%

En un vaso de precipitado se agrega Nitrato de cobre (II) y ácido cítrico en una relación 1:4, y etilenglicol a una relación 1:16. Esta mezcla se mantuvo en agitación constante hasta disolver el precursor y obtener una mezcla homogénea. Posteriormente se llevó a un proceso de evaporación durante 72 h, el material obtenido se trituro en un mortero de ágata y finalmente se calcinó a 400°C con una rampa de 2°C/min durante 4 h.

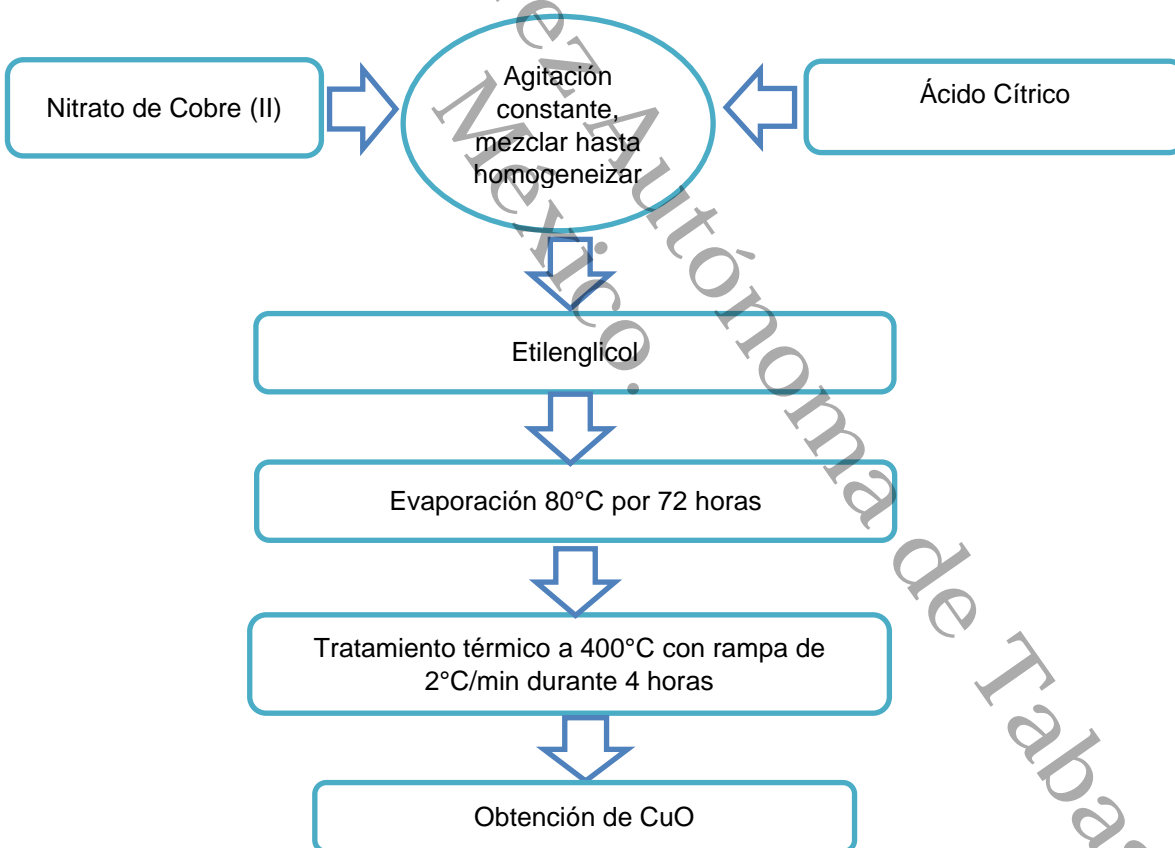
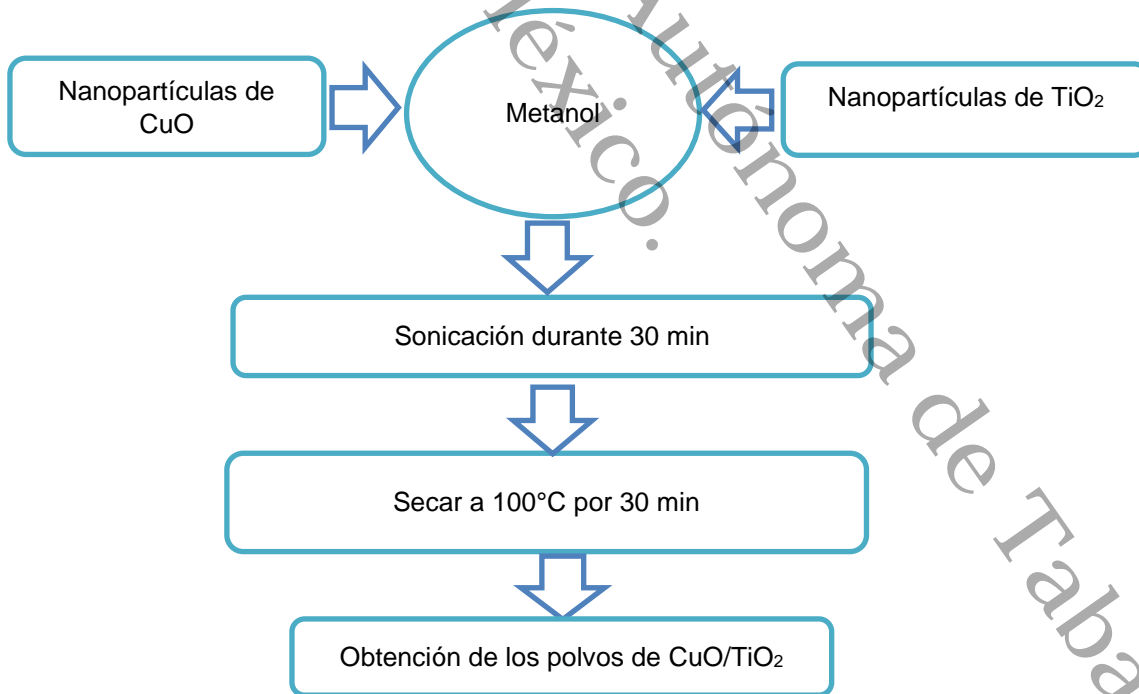


Figura 5. Esquema general de las etapas del procedimiento de Síntesis de las nanopartículas de CuO.

### 3.3 Síntesis de nanomateriales de CuO/TiO<sub>2</sub>

La obtención del compuesto CuO/TiO<sub>2</sub> se realizó por método mecánico en proporción 1:1. Para la realización de los compositos se pesó la misma cantidad de nanopartícula de CuO por un lado y TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas (425, 475, 525, 575°C). Posteriormente se agregó el CuO en la misma proporción (1:1) a los materiales de TiO<sub>2</sub> y cada una de las mezclas se agregó a una solución de 50 mL de metanol al 99.9%.

Las soluciones obtenidas se sonicaron a máxima potencia durante 30 min en un baño ultrasónico. Finalmente, para evaporar el metanol, los materiales se sometieron a un proceso térmico de 100°C durante 30 min. Los materiales que se obtuvieron con esta metodología fueron: CuO/TiO<sub>2</sub> a 425°C, CuO/TiO<sub>2</sub> a 475°C, CuO/TiO<sub>2</sub> a 525°C y CuO/TiO<sub>2</sub> a 575°C. En la Figura 6 se muestra el esquema del procedimiento general de la síntesis.



**Figura 6.** Esquema general de las etapas del procedimiento de Síntesis del compuesto CuO/TiO<sub>2</sub>.



### **3.4 Análisis por Difracción de rayos X**

Por el análisis de DRX se determinaron las fases cristalinas de los materiales. Utilizando un equipo Bruker Advance ECO D8 con radiación Cu-K $\alpha$  ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ), 40kV, 25 mA y acondicionado con un detector de alta velocidad (Lynxeye). Las muestras de CuO y TiO<sub>2</sub> se analizaron bajo las siguientes condiciones: 20° a 80° en  $2\theta$  con 0.0040° de incremento y 1s por paso, lo cual permitió obtener espectros con las cuentas necesarias para realizar el refinamiento de las estructuras, determinando con precisión el valor de los parámetros reticulares y el tamaño de cristalito de los polvos preparados.

### **3.5 Refinamiento Rietveld**

Se realizó el refinamiento Rietveld con la licencia de Total Pattern Analysis Solution (TOPAS) Versión 5. Esta es una técnica de refinamiento que tiene la capacidad de determinar con mayor precisión parámetros estructurales de la muestra, a partir de la construcción de un modelo teórico que se ajusta al patrón de difracción experimental, mediante el método de mínimos cuadrados. Con este método se determinaron las fases y porcentajes de fases presentes en el material.

### **3.6 Análisis por Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)**

El análisis MEB se empleó para determinar la morfología de los nanomateriales sintetizados en un microscopio FESEM-7600 marca Jeol a 20kV. Con la espectroscopia de energía dispersa (EDS) se obtuvo la composición química y estructural de las muestras.

### **3.7 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR-ATR)**

El análisis se realizó en un espectrofotómetro Nicolet iS50 Thermo Scientific, por la técnica de módulo de reflectancia total atenuada (ATR) en un rango de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  con 32 escaneos de resolución, en absorbancia, lo cual nos permitió obtener información sobre los grupos funcionales presentes en las muestras de CuO y TiO<sub>2</sub>, y su estructura de enlaces.

### **3.8 Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y Dispersión de Luz Electroforética (ELS)**

Con la técnica ELS se obtiene el potencial en la doble capa cercano a la superficie de las nanopartículas, el cual está influenciado por la composición de la partícula y el medio en el que se dispersa. A través de esta técnica se determinó el potencial y la carga de los materiales al estar en interacción con el medio dispersante (agua estéril). La técnica DLS mide el movimiento (comportamiento) de las partículas registrando la señal de la luz dispersa que se irradia en un ángulo en específico ( $173^\circ$ ) el cual nos aporta información del tamaño y distribución de partículas de CuO y TiO<sub>2</sub>. Los resultados de DLS y ELS se obtuvieron de la medición en el equipo Zetasizer nano ZS, marca Malvern Instruments, en soluciones dispersadas en agua estéril. Los resultados obtenidos se enlistaron en una tabla y se graficaron.

### **3.9 Actividad antimicrobiana por el método de microdilución**

Para la concentración mínima inhibitoria en *E. coli* y *S. aureus*, se realizó el siguiente procedimiento. Previamente se incubó en una caja de Petri con medio agar soya tripticaseína (TSA) cada una de las bacterias por un periodo de 24 h, a 37°C en la oscuridad. Pasado este tiempo se realizó la tinción de Gram para comprobar las características morfológicas de estas cepas y descartar cualquier contaminación. En *E. coli* se observaron bacterias con una coloración rojiza en forma de bastón, indicando que eran Gram negativas. En *S. aureus* se observó la acumulación de cocos color morado, lo cual indica que son bacterias Gram positivas.

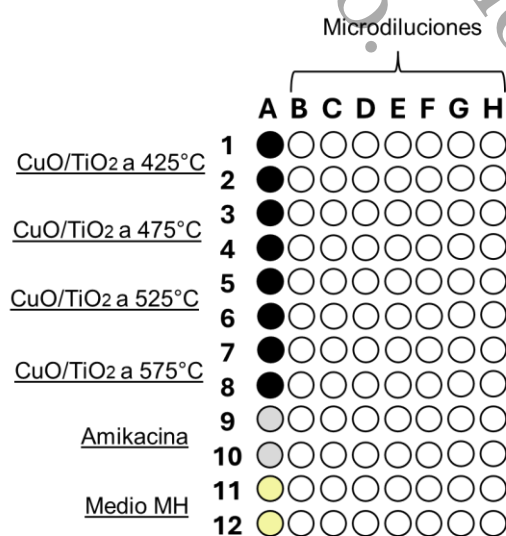
#### **3.9.1 Preparación de la suspensión de nanomateriales**

Para obtener una concentración inicial en el primer pozo de las microplacas de 20 mg/mL de cada uno de los materiales sintetizados. Se pesaron 80 mg y se colocaron en un frasco estéril con 1 mL de agua milli-Q. Posteriormente se sonicaron durante 2 h para la dispersión de partículas.

### 3.9.2 Metodología del método de microdilución

En una placa estéril de 96 pozos se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de solución salina al 0.85%. Posteriormente en el primer pozo (columna A) se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de las nanopartículas a la concentración previamente mencionada y 100  $\mu\text{L}$  de los controles positivo y negativo (amikacina y medio MH) con su duplicado con cada material respectivamente. Se realizaron microdiluciones a la mitad, desde 20 a 0.156 mg/mL. Finalmente, se adicionan 100  $\mu\text{L}$  de bacterias a cada uno de los pozos.

La suspensión de bacterias y nanomateriales se homogenizó y se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas. Después, se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de (TTC) cloruro de trifeniltetrazolio como revelador a través de la coloración de bacterias activas. Este colorante en su forma oxidada se presenta incoloro, cuando se reducen las sales del tetrazolio por la acción enzimática de los microorganismos vivos, este se torna a color rojizo por la acción de los cristales de formazan [49]. Este es un método indirecto que permite medir la actividad respiratoria asociada a una cadena de transporte de electrones, el TTC es comúnmente utilizado gracias a la rapidez con la que se reducen los sistemas de deshidrogenasa. El pH de la muestra influye en la eficacia del resultado, ya que a pH bajos (menores a 5) se inhibe la reducción del TTC [50]. En la Figura 7 se muestra un esquema del ensayo realizado.



**Figura 7.** Esquema general del ensayo de microdilución para determinar MIC.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

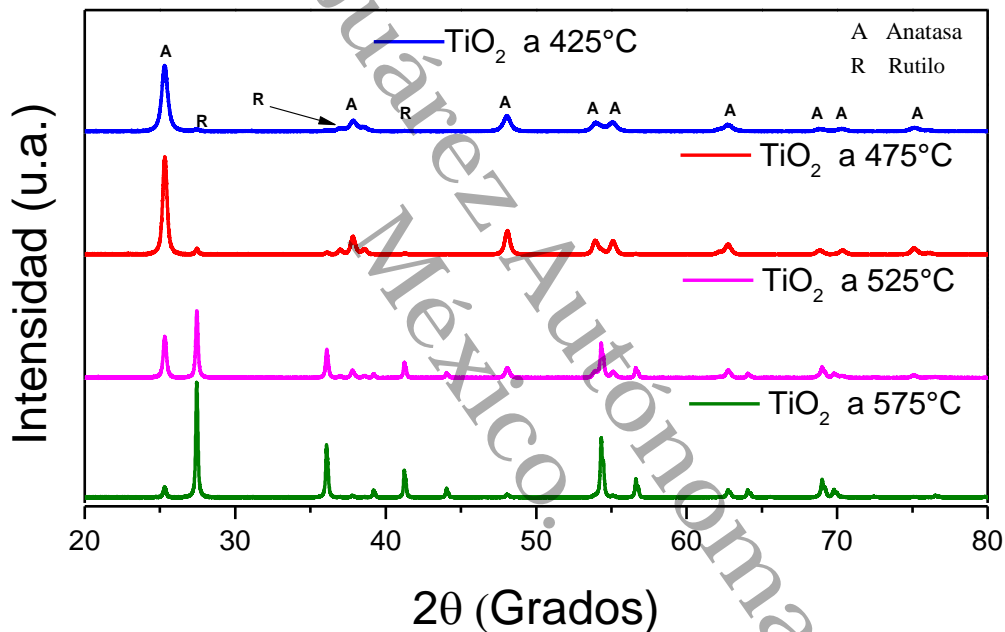
# **CAPÍTULO**

# **4**

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### 4.1 Difracción de rayos X

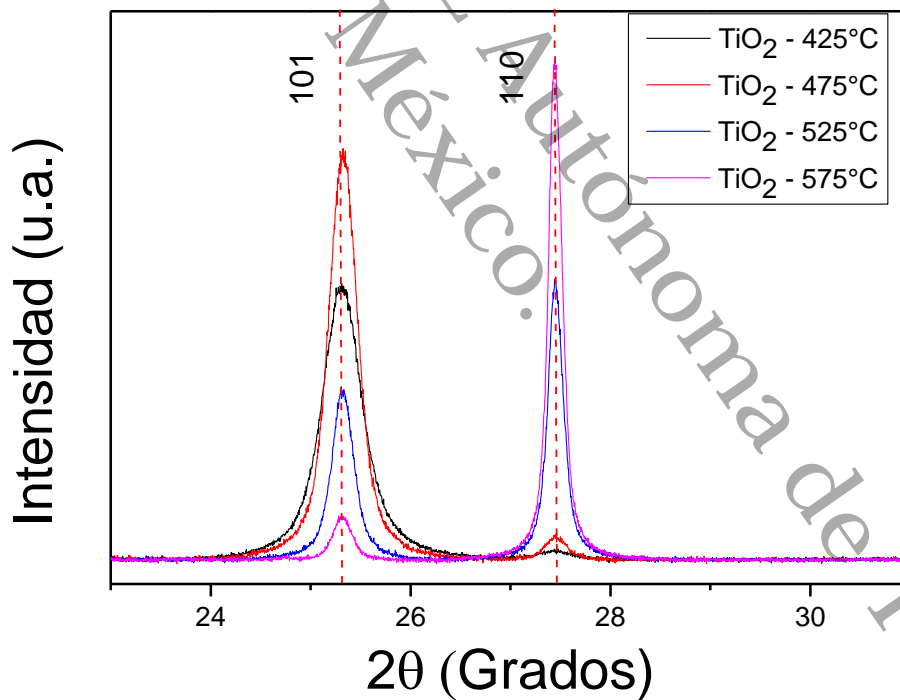
Los materiales sintetizados se analizaron por la técnica de DRX, en la Figura 8 se muestran los difractogramas de  $\text{TiO}_2$  después de ser calcinados a diferentes temperaturas. Se observa que en todos los casos presentan una combinación de fases de anatasa y rutilo, propias del  $\text{TiO}_2$ . En la fase anatasa se muestran las reflexiones representativas en  $\sim 25.5^\circ$ ,  $37.7^\circ$ ,  $48.2^\circ$ ,  $55.3^\circ$  y  $68^\circ$  en  $2\theta$  de acuerdo con la carta 00-004-0477. De igual forma, las reflexiones en  $\sim 27.4^\circ$ ,  $36.06^\circ$  y  $41.22^\circ$  en  $2\theta$  que corresponde a la fase rutilo, de acuerdo con la carta 00-004-0551.



**Figura 8.** Patrón de difracción de rayos X de los materiales de  $\text{TiO}_2$  a diferentes temperaturas con fase anatasa y rutilo.

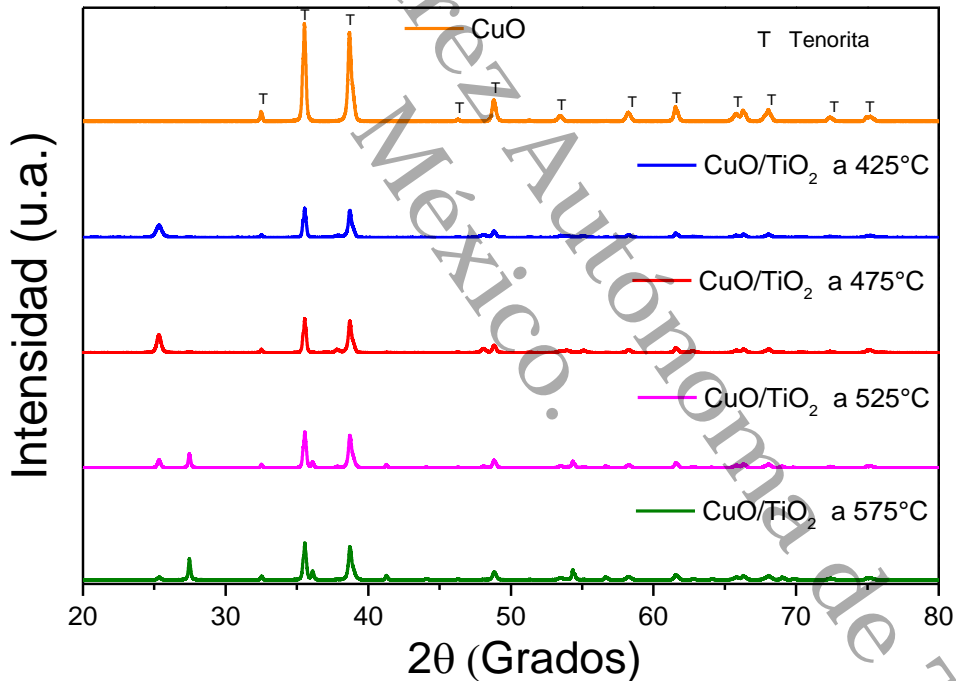
En la Figura 9 se muestra un acercamiento a los picos representativos de anatasa en  $\sim 25.5^\circ$  con plano cristalino (101), y rutilo en  $\sim 27.4^\circ$  con plano cristalino (110), tal como se muestra en la imagen, no hubo desplazamiento de los picos. Se resalta que en los materiales de  $\text{TiO}_2$  a 425 y 475°C la fase de mayor intensidad es la anatasa mientras

que el rutilo se presenta en un pico con poca intensidad el cual aumenta un poco a 475°C. En contraste, los materiales de 525 y 575°C la fase de mayor intensidad es la fase rutilo, alcanzado un aumento significativo en comparación con los materiales antes mencionados. También se realiza la disminución marcada de la fase anatasa a partir de 525°C. La fase anatasa presenta una temperatura de estabilidad de ~300°C a ~700°C y la fase rutilo se ha reportado en temperaturas de ~500°C a ~1200°C. En el estudio realizado por Verissimo *et al* [51], el CP-TiO<sub>2</sub> a 470°C muestra un aumento significativo en la fase rutilo a diferencia del material sintetizado en este trabajo donde se aprecia este aumento en 525°C. En otros estudios [52, 53] el rutilo se observa en temperaturas ~700°C. Esto señala que el precursor y adición de dopantes influye significativamente en la transición de fases. También, se observa el ensanchamiento de los picos en relación con la temperatura y con mayor detalle el cambio de las intensidades en los diferentes materiales de TiO<sub>2</sub>.



**Figura 9.** Patrón de difracción de los planos (101) y (110) de anatasa y rutilo en los materiales de TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas.

En la Figura 10, se muestra el difractograma del CuO y los composites de CuO/ TiO<sub>2</sub> a 425, 474, 525 y 575 °C. Tal como se observa, el material de CuO que indica la presencia de la fase tenorita con sus picos representativos en ~35.54°, 38.7° y 48.7° en 2θ de acuerdo con la carta 00-048-1548, mientras que los composites de CuO/TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas se muestran los picos característicos de las fases rutilo y anatasa antes mencionados. Se puede apreciar que no hay desplazamiento ni ensanchamiento o estrechamiento significativo en los picos de los composites, sin embargo, hay un ligero estrechamiento con respecto a los picos principales del CuO. También se observa que las fases anatasa y rutilo propias del titanio no presentaron ninguna modificación estructural en los picos característicos.

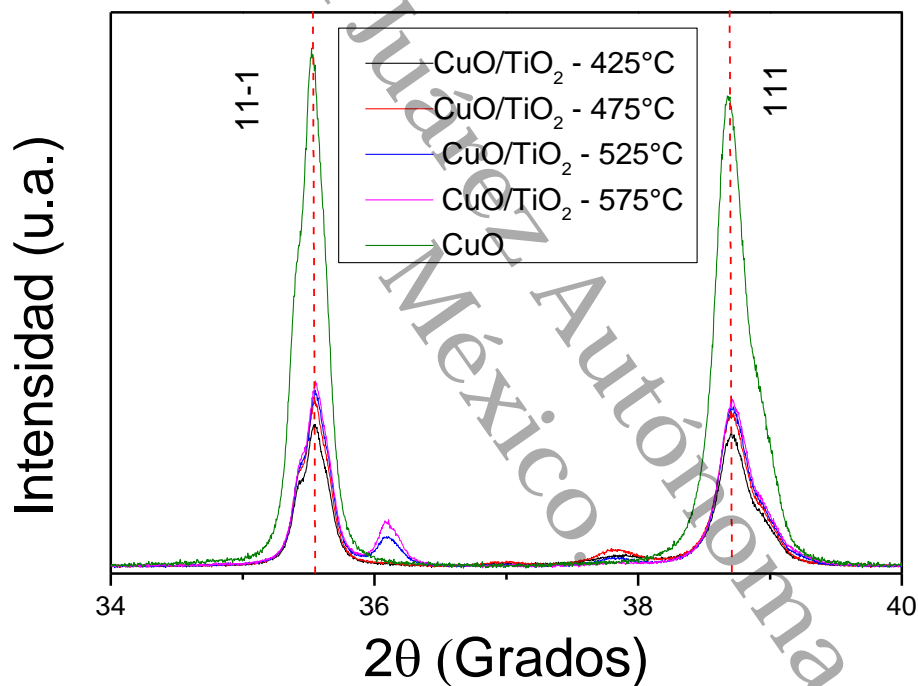


**Figura 10.** Patrones de difracción de rayos X de los materiales a diferentes temperaturas de CuO y CuO/TiO<sub>2</sub>.

En la Figura 11 se muestra el patrón de difracción de los picos representativos de la fase tenorita del CuO, de acuerdo con los trabajos reportados [54], los cuales se encuentran en los planos (11-1) y (111) con posiciones en 2θ 35.5° y 38.4°

respectivamente. Se observa desplazamiento de picos, lo que señala que no hay presencia de ocupación o sustitución los sitios intersticiales del titanio, posiblemente a causa del método de síntesis de los compositos (síntesis mecánica).

También, se observa una notoria diferencia de intensidad entre la muestra de CuO y los compositos con TiO<sub>2</sub> ya que estos presentan un alto índice de disminución, mayor al 50%. Que según la literatura [54] este comportamiento se atribuye a la interacción de los 2 materiales dado que entre los compositos no se observa una diferencia significativa en la intensidad



**Figura 11.** Patrón de difracción de los planos (11-1) y (111) la fase tenorita de los materiales de CuO y CuO/TiO<sub>2</sub>.

Con base en lo anterior, la técnica de DRX fue fundamental para confirmar que se cumplió el objetivo de establecer los parámetros de síntesis para tener un control en la combinación de fases del TiO<sub>2</sub>, ya que se obtuvieron los materiales deseados con diferente proporción de la fase rutilo y anatasa, lo cual nos permitirá evaluar la actividad antimicrobiana de las mismas y el efecto que tienen al combinarlas con la fase tenorita del CuO en la inhibición de *E. coli* y *S. aureus*.



## 4.2 Refinamiento Rietveld

El análisis de Rietveld se realizó para determinar el porcentaje de fases cristalinas, ya que en la mayoría de los trabajos no presentan esta información, la cual es relevante para determinar su actividad. La importancia de la determinación del porcentaje de fases radica en que el objetivo principal es evaluar la influencia de las fases cristalinas del titanio y su combinación con CuO en la actividad antimicrobiana contra *E. coli* y *S. aureus*.

En este método la función que se minimiza es  $S_y$ , con ella se genera el residuo cuyo valor se emplea como criterio para determinar qué tan bueno es el ajuste entre los difractogramas experimental y teórico, por lo cual, se emplea la función de mínimos cuadrados (ec. 1), donde dicho ajuste ( $S_y$ ) está dado por ( $Y_{oi}$ ), que representa las intensidades observadas y ( $Y_{ci}$ ) para las intensidades calculadas [55].

Para que el valor de este residuo sea pequeño, se requiere que todas las partes que contribuyen al difractograma sean modeladas correctamente.

$$S_y = \sum_i W_i (Y_{oi} - Y_{ci})^2 \quad (1)$$

A partir de lo anterior, para lograr un ajuste que sea preciso, se deben tomar en cuenta la totalidad de los factores presentes que intervienen en el perfil de difracción, entre los cuales, a pesar de tener un modelo adecuado, se pueden presentar errores que produzcan desajustes en la relación de las intensidades calculadas y observadas.

A estos valores se les denomina criterios de ajuste del refinamiento y se calculan a partir de los valores residuales  $R_p$  (que representa R-patrón),  $R_{wp}$  (R-patrón pesado),  $R_{exp}$  (R-esperado) y  $GOF$  (goodness of fit) que es igual a  $X^2 = R_{wp} / R_{exp}$  [55-58].

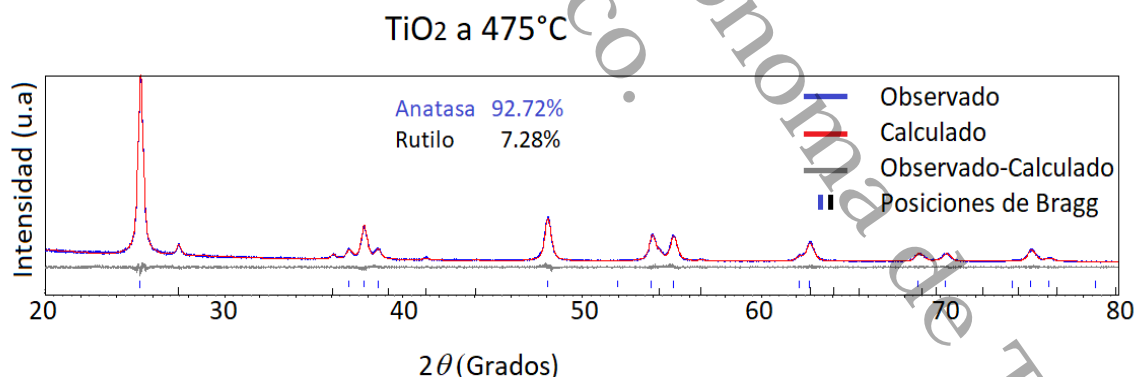
$R_p$  es la directa relación entre las intensidades experimentales y observadas sin la influencia del peso entre ellas, su valor debe ser bajo ya que representa más al background al no estar ponderada.

$R_{wp}$  a diferencia del anterior incluye la influencia del peso sobre las intensidades y da mayor relevancia a los desajustes en altas intensidades en los picos de difracción que en las bajas como background.

$R_{exp}$  representa la calidad esperada del ajuste, cuando se realiza un ajuste de buena calidad en los datos de difracción, este valor es más bajo que el  $R_{wp}$ .

GOF o bondad de ajuste describe que tan bien se ajustan el conjunto de observaciones en el modelo, lo ideal es que los valores obtenidos sean lo más cercano a 1 ya que esto representa un ajuste perfecto, sin embargo, valores menores a 1 se considera que la calidad de los datos es insuficiente para realizar un ajuste adecuado [55-56].

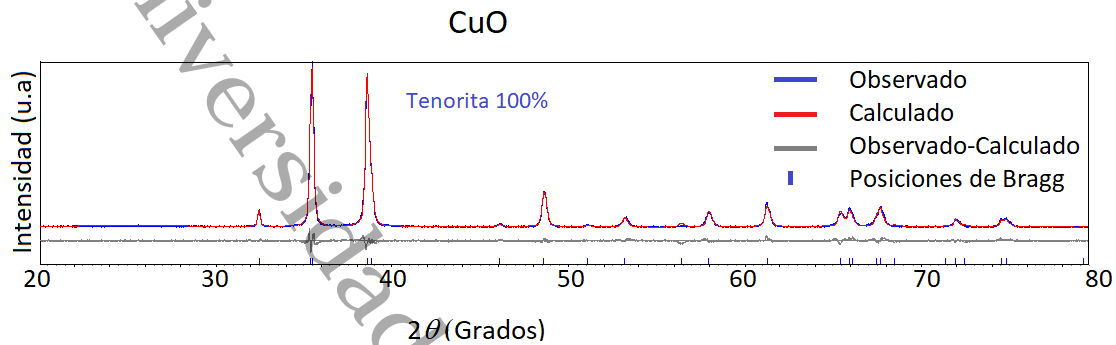
Con base en lo anterior, en la Figura 12 se muestra el refinamiento realizado en la muestra de  $TiO_2$  a  $475^\circ C$ , donde se puede apreciar visualmente el ajuste entre el modelo observado y calculado, al igual que las posiciones de Bragg, obteniendo mayor porcentaje de la fase anatasa con 92.72% y rutilo con 7.28% dando como resultado el 100% del material, lo cual señala un ajuste adecuado entre el modelo teórico y experimental, esto debido a que en el análisis de DRX se obtuvieron los datos de difracción con los parámetros de conteo necesarios para un correcto ajuste.



**Figura 12.** Modelo de refinamiento Rietveld, composición, porcentaje de fases y posiciones de Bragg de  $TiO_2$  a  $475^\circ C$ .

En la Figura 13, se muestra el ajuste de refinamiento del material de  $CuO$  en el cual se obtuvo el 100% de la fase tenorita, esta es la fase que se esperaba obtener, ya que en la síntesis de los materiales de  $CuO$  se pueden obtener  $Cu_2O$  en menor proporción.

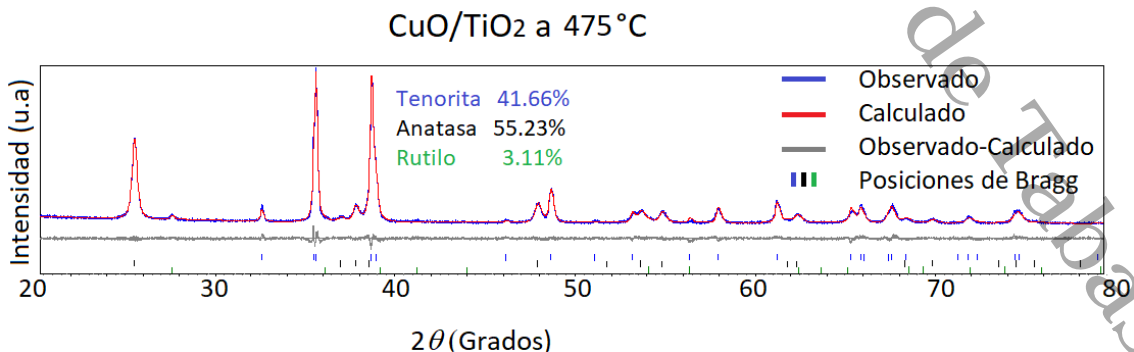
Tal como se observa en la imagen, el ajuste en los picos es el correspondiente a la fase tenorita al igual que las posiciones de Bragg.



**Figura 13.** Modelo de refinamiento Rietveld, composición, porcentaje de fases y posiciones de Bragg del CuO.

En el compuesto de CuO/ TiO<sub>2</sub> a 475°C la composición de fases que se obtuvo en el ajuste fue: tenorita (41.66%), anatasa (55.23%) y rutilo (3.11%). Sin embargo, el incremento respecto al material de TiO<sub>2</sub> a 475°C, se le atribuye a la incorporación del CuO, esto a causa la intensidad de los picos principales de la tenorita. Ya que su síntesis fue por un método mecánico, no se presenta un cambio significativo en las propiedades estructurales del material.

Por lo anterior, tal como se observa en la Figura 14, las posiciones de Bragg y los picos representativos de cada fase, tienen una estrecha relación entre el modelo calculado (línea roja) y el observado (línea azul) y la representación en las variaciones entre estas se muestra en la línea gris.



**Figura 14.** Modelo de refinamiento Rietveld, composición, porcentaje de fases y posiciones de Bragg de CuO/TiO<sub>2</sub> a 475°C.

De acuerdo con la literatura [56-57], los valores aceptables de R no deben ser mayores a  $\sim 10$ , y el valor de GOF debe ser cercano a 1 y el valor de  $R_{exp}$  debe ser menor al valor de  $R_{wp}$ , lo cual indica que se obtuvieron buenos datos de difracción y realizado un ajuste correcto entre el modelo calculado y el observado.

Tal como se observa en la Tabla I, la tendencia del porcentaje de fases incrementa en la fase rutilo y disminuye la fase anatasa por la influencia del tratamiento térmico mencionada en el análisis de DRX. También, en la tabla I se enlistan valores obtenidos de:  $R_p$ ,  $R_{wp}$ ,  $R_{exp}$ , y GOF.

Los valores de GOF entre más cercano sean a 1, mejor es el ajuste realizado. Los valores obtenidos se encuentran dentro de los aceptados [55-58] para un correcto ajuste entre el modelo calculado y el observado. Como se observa el material a 475°C tiene un valor de 1.08 lo que garantiza un ajuste ideal. Del mismo modo, los materiales presentan valores muy cercanos a 1, señalando un correcto refinamiento.

**Tabla I.** Resultados del refinamiento Rietveld de los materiales de  $TiO_2$ , CuO y CuO/ $TiO_2$

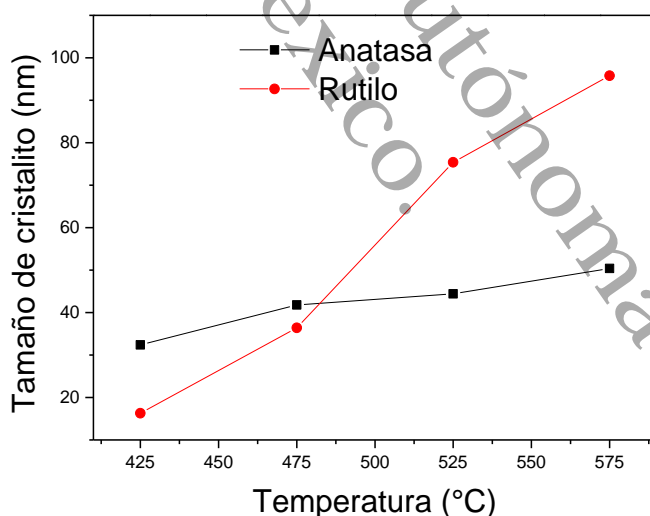
Muestra	Fases (%)			$R_p$	$R_{wp}$	$R_{exp}$	GOF
	Anatasa	Rutilo	Tenorita				
$TiO_2$ - 425 °C	93.58	8.42		5.13	6.82	4.84	1.41
$TiO_2$ - 475 °C	92.72	7.28		4.97	6.72	6.24	1.08
$TiO_2$ - 525 °C	38.1	61.9		5.64	7.22	5.75	1.26
$TiO_2$ - 575 °C	8.35	91.65		6.43	8.09	5.53	1.46
CuO			100	3.53	4.79	2.61	1.83
CuO/ $TiO_2$ - 425 °C	59.04	3	37.96	3.05	4	2.93	1.36
CuO/ $TiO_2$ - 475 °C	55.23	3.11	41.66	3.04	3.99	2.81	1.42
CuO/ $TiO_2$ - 525 °C	20.39	33.81	45.80	3.02	3.93	2.80	1.40
CuO/ $TiO_2$ - 575 °C	6.72	45.59	47.69	3.42	4.51	2.75	1.64

Otro de los datos que se obtiene en el refinamiento es el tamaño de cristalito correspondiente a cada fase respecto a la temperatura. En la Tabla II se muestra el tamaño de cristalito en los materiales de  $TiO_2$  de la fase anatasa y rutilo con respecto a la temperatura. Tal como se observa, a medida que se incrementa la temperatura, también aumenta el tamaño del cristalito.

**Tabla II.** Tamaño de cristalito de las fases anatasa y rutilo de los materiales de TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas.

Muestra	Tamaño de cristalito (nm)	
	Anatasa	Rutilo
TiO <sub>2</sub> - 425 °C	32.4	16.3
TiO <sub>2</sub> - 475 °C	41.8	36.4
TiO <sub>2</sub> - 525 °C	44.4	75.4
TiO <sub>2</sub> - 575 °C	50.4	95.8

En la Figura 15, se muestra gráficamente el incremento del tamaño de cristalito con respecto a la temperatura, se puede apreciar que en la fase anatasa los valores van desde ~32.4 nm para 425°C hasta ~50.4 nm para 575°C. Como se puede notar, se obtuvo un incremento de ~18 nm entre los materiales de titanio fase anatasa, en comparación con la fase rutilo, donde a 425°C se obtienen valores de ~16.3 nm y para 575°C alcanza valores de ~95.8 nm obteniendo un incremento de ~79.5 nm.



**Figura 15.** Tamaño de cristalito de las fases anatasa y rutilo de los materiales de TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas.

En la literatura se reportan tamaños de entre 7 y 14 nm [7], que en comparación con los resultados obtenidos muestra una gran diferencia, sin embargo, estos resultados tienen relación con los valores obtenidos en DRX debido a que el tamaño de cristalito

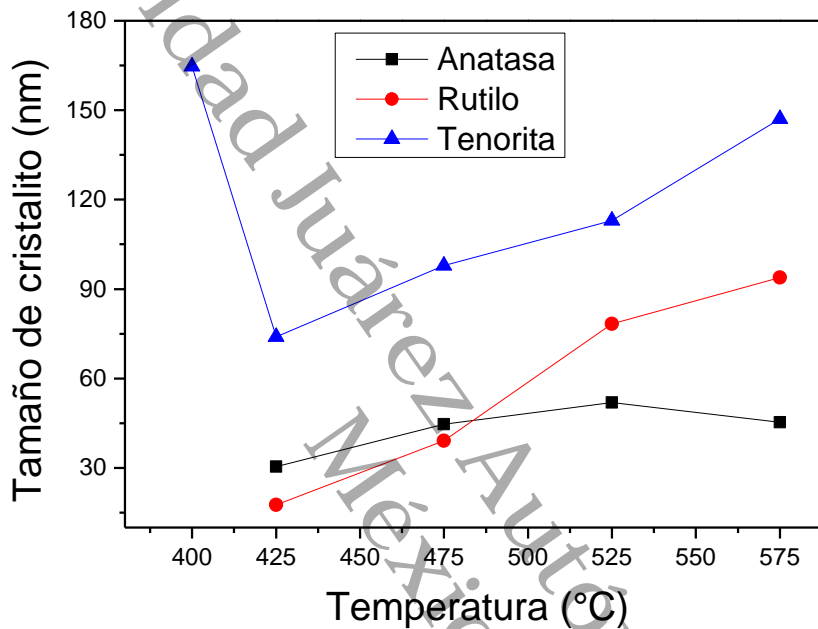
está relacionado con el ensanchamiento de los picos y se puede asociar con el tratamiento térmico [19, 22], los precursores utilizados e incluso la molienda mecánica, los cuales influyeron en la formación de las fases favoreciendo a la fase anatasa en contraste con rutilo.

En la Tabla III se enlistan los tamaños de cristalito correspondiente a los materiales de CuO y CuO/TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas. En las fases anatasa y rutilo se observan valores similares mencionados anteriormente, sin embargo, se destaca una ligera disminución, para la fase anatasa, pasando de valores de 50.4 nm a 45.3 nm en los materiales con tratamiento térmico a 575°C, siendo este último el material de titanio que contiene CuO, por otra parte, en la fase rutilo se aprecia un ligero incremento entre los materiales con y sin CuO a 425, 475 y 525°C, con un incremento de aproximadamente 3 nm, sin embargo no es el mismo caso para el material de CuO/TiO<sub>2</sub> a 575°C ya que este presenta una disminución en el tamaño de cristalito de aproximadamente 2 nm, esto último se puede atribuir a la adición del CuO ya que de acuerdo a los resultados de Rietveld, este es el material con mayor porcentaje de la fase tenorita del CuO (anatasa 6.72%, rutilo 45.59% y tenorita 47.69%), por lo cual se podría concluir que la adición del CuO promueve la disminución del tamaño de cristalito. También se observa que el tamaño de cristalito del CuO disminuye con respecto al valor de los compositos y tiene una estrecha relación con el porcentaje presente de la fase tenorita en los materiales, con la influencia del tratamiento térmico, precursores utilizados y técnica de molienda.

**Tabla III.** Tamaño de cristalito de las fases anatasa, rutilo y tenorita de los materiales de CuO y CuO/TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas.

Muestra	Tamaño de cristalito (nm)		
	Anatasa	Rutilo	Tenorita
CuO			164.7
CuO/TiO <sub>2</sub> - 425 °C	30.4	17.6	74
CuO/TiO <sub>2</sub> - 475 °C	44.6	39.1	97.9
CuO/TiO <sub>2</sub> - 525 °C	51.9	78.3	113
CuO/TiO <sub>2</sub> - 575 °C	45.3	93.9	147.1

En la Figura 16, se muestra el comportamiento del tamaño de cristalito con respecto a la temperatura de calcinación de las fases anatasa, rutilo y tenorita. Se puede apreciar la disminución de la fase tenorita en el CuO y los composites y como esta fase presenta valores mayores en comparación a anatasa y rutilo.



**Figura 16.** Tamaño de cristalito de las fases anatasa, rutilo y tenorita de los materiales de TiO<sub>2</sub>, CuO y CuO/TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas.

De acuerdo con los resultados obtenidos por el refinamiento Rietveld se estimó el porcentaje de las fases obtenidas en DRX, lo cual era el principal propósito de implementar esta técnica, así como el tamaño de cristalito de cada fase presente en los materiales el cual puede influenciar en la actividad antimicrobiana, sin embargo, se realiza la influencia que tiene la fase tenorita del CuO en la disminución del tamaño de cristal en los composites en comparación con el material de CuO solo, y como esto puede mejorar la actividad inhibitoria de los materiales en los diferentes porcentajes de fases obtenidos.

### 4.3 Microscopia electrónica de barrido (MEB-EDS)

En el análisis MEB se empleó en mapeo de espectroscopia de energía dispersa (EDS). En la Figura 17a se muestra el material de  $\text{TiO}_2$  a  $475^\circ\text{C}$ . Se observa una morfología y aglomerados irregular y con tamaños promedio menores a  $1\mu\text{m}$ . En un estudio reportado por Zahan *et al* [59] se muestran materiales de titanio con morfología similar sintetizado por el método sol-gel. En el análisis EDS (Figura 17b confirma la presencia de Ti y O en los materiales de  $\text{TiO}_2$ .

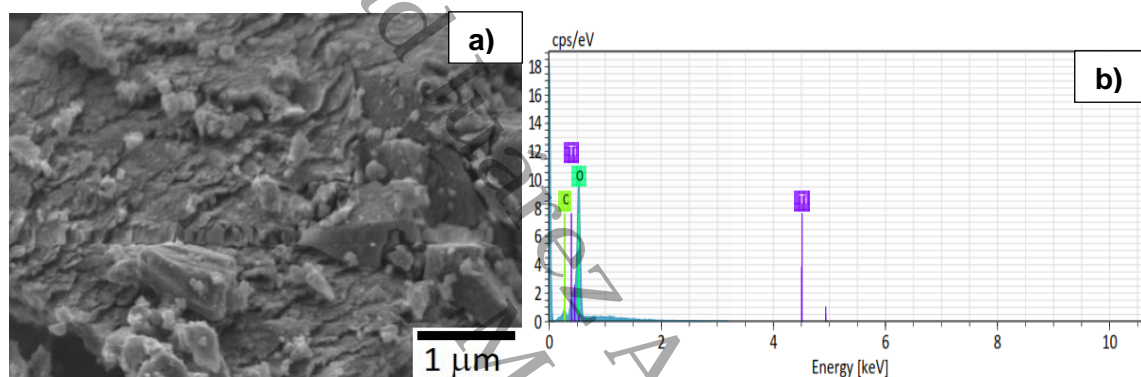


Figura 17. a) Micrografía y b) EDS correspondiente a las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  a  $475^\circ\text{C}$ .

En la Tabla IV, se enlistan los elementos y el porcentaje de masa presente en la muestra de  $\text{TiO}_2$  a  $475^\circ\text{C}$ . Lo que confirma los resultados obtenidos en DRX y Rietveld.

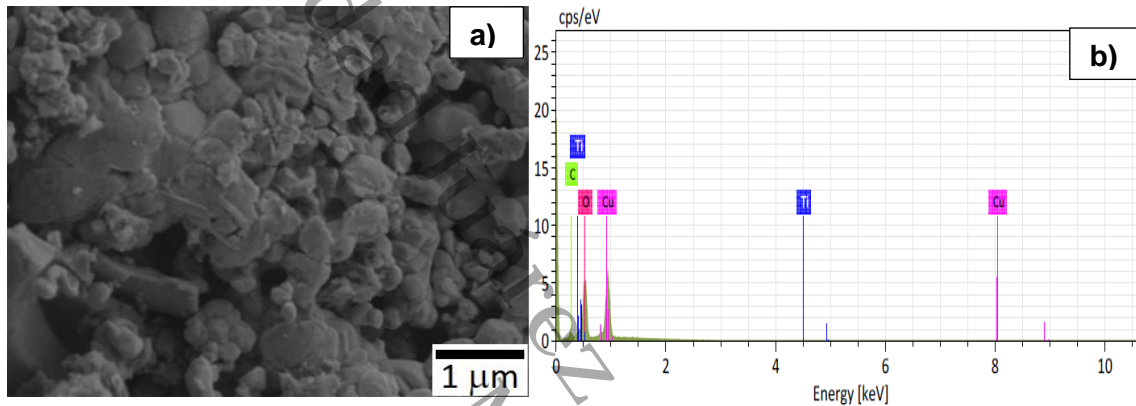
Tabla IV. Elementos y distribución de % de masa de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  a  $475^\circ\text{C}$ .

Elemento	%masa
Ti	50.37
O	48.81
C	0.82
Total	100

La micrografía del compuesto obtenido por síntesis mecánica de  $\text{CuO}/\text{TiO}_2$  a  $475^\circ\text{C}$  se muestra en la Figura 18a. Se observa una morfología irregular. En comparación con el material de titanio a la misma temperatura de calcinación, el compuesto muestra la



formación de aglomerados más definidos con un arreglo irregular y tamaños promedio menores a  $1\mu\text{m}$ . También se observa un ligero cambio en la tonalidad, la muestra con  $\text{CuO}$ , se percibe más oscura que la del titanio solo. En un estudio realizado por Prajapat *et al* [60], se observa una morfología similar al mezclar titanio y cobre. En el análisis de EDS (fig. 18b) señala los elementos presentes en la muestra, se puede concluir que la pureza lograda. Lo que demuestra la eficacia y confiabilidad en el método de síntesis.



**Figura 18.** a) Micrografía y b) EDS correspondiente a las nanopartículas de  $\text{CuO/TiO}_2$  a  $475^\circ\text{C}$ .

En la Tabla V se muestra el porcentaje de masa y los elementos presentes en el composito, mostrando un mayor porcentaje de Cu en la morfología superficial.

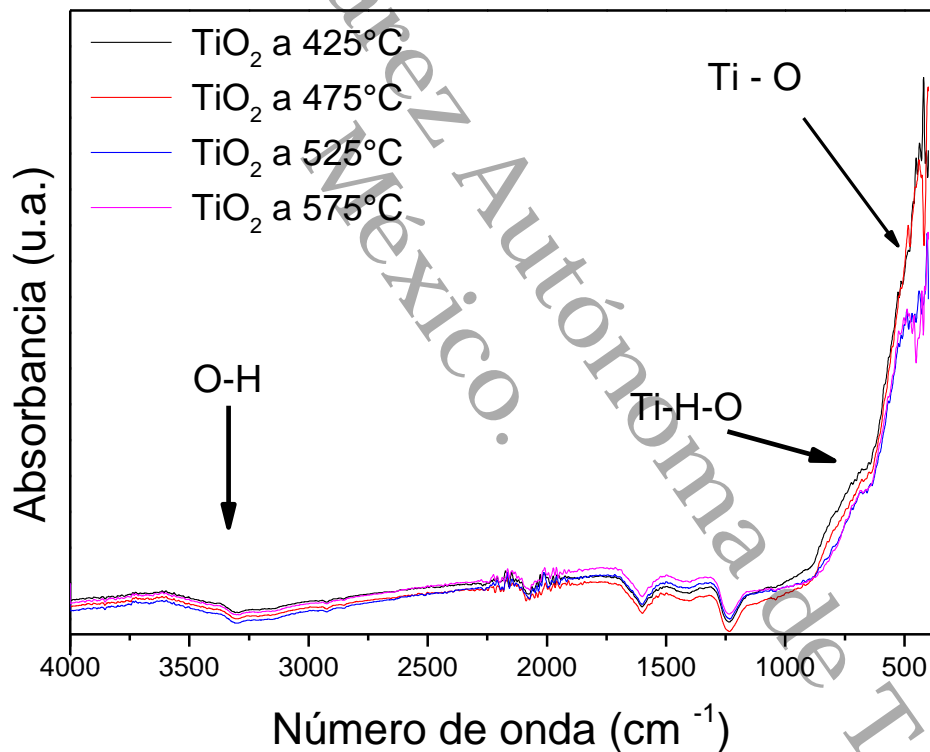
**Tabla V.** Elementos y distribución de % de masa de las nanopartículas de  $\text{CuO/TiO}_2$  a  $475^\circ\text{C}$ .

Elemento	%masa
<b>Cu</b>	59.76
<b>Ti</b>	16.78
<b>O</b>	22.74
<b>C</b>	0.72
<b>Total</b>	100

#### 4.4 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

El análisis de FTIR-ATR se empleó para obtener las vibraciones moleculares correspondientes a las muestras de  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{CuO}$  y  $\text{TiO}_2/\text{CuO}$ .

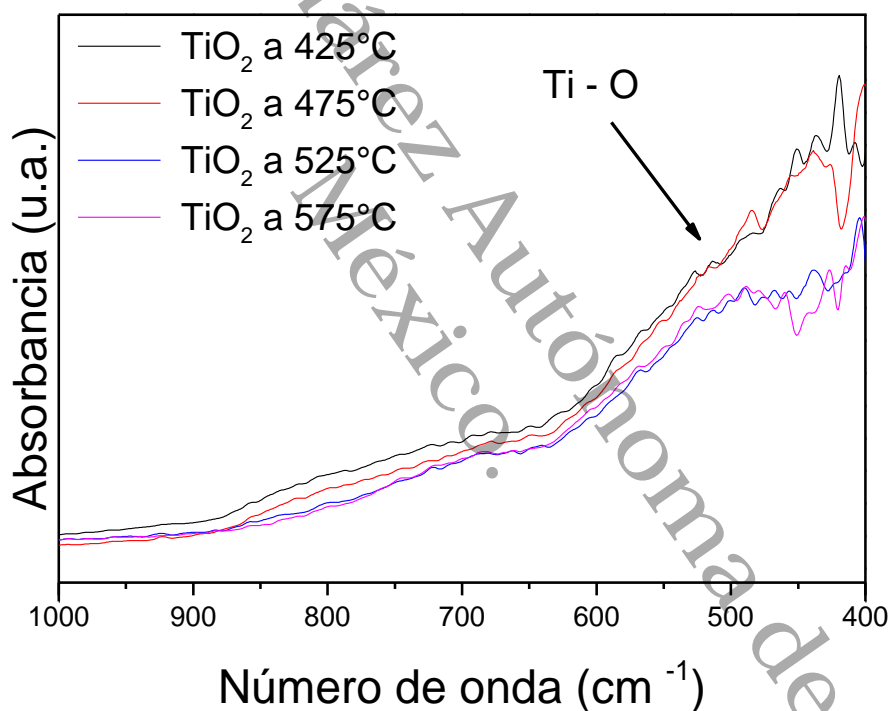
En la Figura 19, se observan las bandas de los materiales base  $\text{TiO}_2$ , mostrando una banda ancha en  $\sim 500 \text{ cm}^{-1}$  del número de onda, esta posición señala la vibración del enlace M-O el cual en este caso se refiere a la unión de  $\text{Ti} - \text{O}$  [61]. El  $\text{TiO}_2$  al tener una base más hidroxilada [62] presenta una banda en  $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$  que señala los OH superficiales y un pequeño hombro aproximadamente entre  $600$  y  $800 \text{ cm}^{-1}$ , hace referencia al enlace  $\text{Ti-H-O}$  [61].



**Figura 19.** Espectros FTIR-ATR de los materiales de  $\text{TiO}_2$ , calcinados a diferentes temperaturas.

Los materiales no presentan una diferencia significativa entre ellos, los materiales con mayor intensidad en la absorbancia de la banda  $\text{Ti-O}$  son el de 425 y 475°C en comparación con los materiales de 525 y 575°C.

En la Figura 20, se muestra un acercamiento en la banda correspondiente al enlace Ti-O, donde se aprecia mejor la diferencia de la absorbancia entre los materiales, de acuerdo con los resultados obtenidos en el refinamiento Rietveld, los materiales que presentan mayor absorbancia (425 y 475 °C) son los materiales con mayor porcentaje de la fase anatasa, en contraste, los materiales que muestran una menor absorbancia son los que presentan como fase mayoritaria la fase rutilo. Sin embargo, no se distinguen vibraciones significativas de otros grupos funcionales, solo pequeñas señales que se atribuyen a un posible material orgánico, lo que nos permite descartar cualquier impureza y hace referencia a una buena síntesis por el método sol-gel.



**Figura 20.** Acercamiento a la banda del enlace Ti-O de los materiales de TiO<sub>2</sub>, calcinados a diferentes temperaturas.

De igual forma que los materiales de TiO<sub>2</sub>, en los materiales de CuO y CuO/TiO<sub>2</sub> se observa una banda en ~530 cm<sup>-1</sup> para el material de CuO la cual se superpone a la banda antes mencionada en los materiales del titanio, sin embargo, en este caso se refiere a la unión de Cu- O la cual también se muestra con mayor absorbancia [63].

En los composites de CuO/ TiO<sub>2</sub>, se observa la banda del enlace Ti-O y CuO, al igual que las referentes a los OH superficiales del titanio.

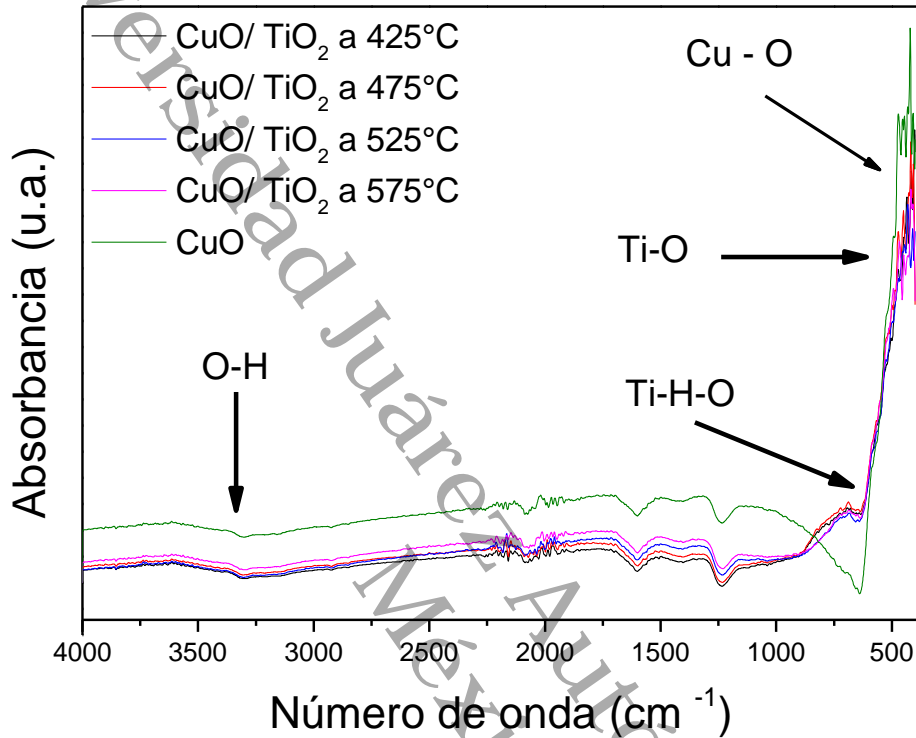
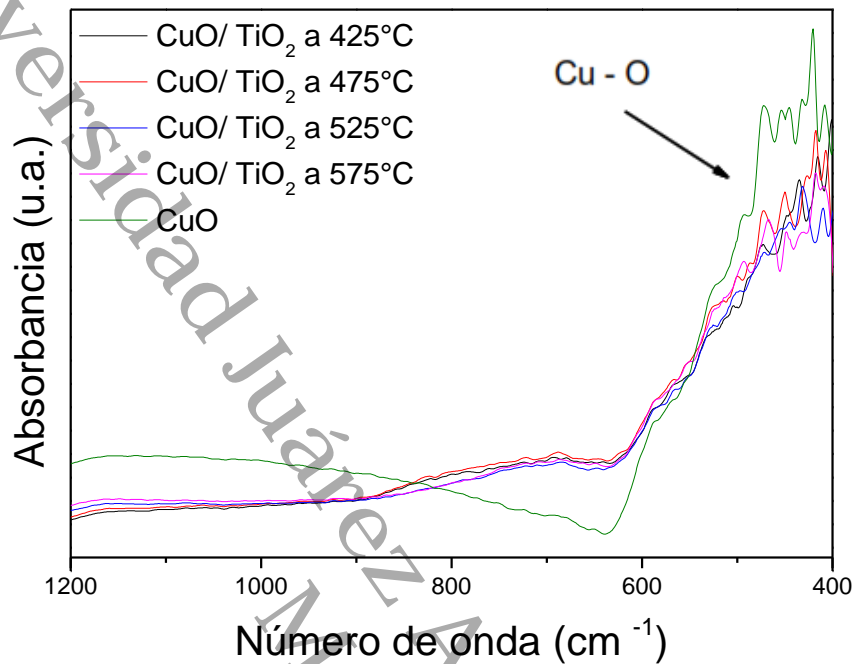


Figura 21. Espectros FTIR-ATR de los materiales de CuO y CuO/TiO<sub>2</sub>, a diferentes temperaturas.

Sin embargo, es destacable que en los materiales de solo titanio hay diferencia en la absorbancia del enlace M-O con referencia a la fase anatasa y rutilo, sin embargo, en los materiales de CuO/TiO<sub>2</sub> las bandas se posicionan en el mismo nivel de absorbancia [64].

En la Figura 22 se muestra un acercamiento a la región de las bandas del enlace M-O, en la cual se observa una diferencia en la absorbancia de los materiales de CuO y CuO con TiO<sub>2</sub>, en este caso no se observa una diferencia con respecto a la composición de las fases, sin embargo, se destaca como al agregar CuO los materiales se mantienen sin variaciones significativas entre sí. Por otro lado, en la región del enlace Ti-H-O el hombro se presenta con mejor definición y un ligero

desplazamiento, estas modificaciones se deben posiblemente a la interacción de los OH superficiales del titanio con el cobre [65].



**Figura 22.** Acercamiento a la banda del enlace Cu-O de los materiales de CuO/TiO<sub>2</sub>, calcinados a diferentes temperaturas.

Con base en lo anterior se puede confirmar que se obtuvieron resultados favorables. Es posible ver que el cobre presenta modificaciones al agregarlo a los materiales de titanio, la finalidad de realizar esta técnica fue conocer la interacción de los enlaces en las muestras y con esta información se espera obtener una diferencia en la actividad antimicrobiana de los materiales con y sin CuO.

#### 4.5 Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y Dispersión de Luz Electroforética (ELS)

La técnica DLS, tal como su nombre lo señala, analiza el movimiento browniano de las partículas en función de la luz que se irradia, las cuales dependiendo de su tamaño se moverán de acuerdo con una trayectoria en función del tiempo, lo que permite determinar el tamaño de las partículas y su comportamiento en un medio dispersante [66].

Para la medición de ELS y DLS se colocaron las nanopartículas en una solución de agua estéril, a causa de que los materiales se precipitan rápidamente, se sonicaron por 10 min y se tomaron las mediciones.

La Figura 23 muestra el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  a diferentes temperaturas. En la gráfica se observa una variación de los diámetros, y se resalta como el material a  $575^\circ\text{C}$  muestra una banda y estirada y es el material con menor tamaño promedio de partícula (Z-average) el cual es de 225 nm en comparación con el material a  $525^\circ\text{C}$  que presenta un Z-average de 627.1 nm, esto se atribuye a la formación de aglomerados y la dispersión de la luz con función del tiempo, ya que en los resultados obtenidos de tamaño de cristalito, este material presenta los mayores tamaños en la fase anatasa y rutilo.

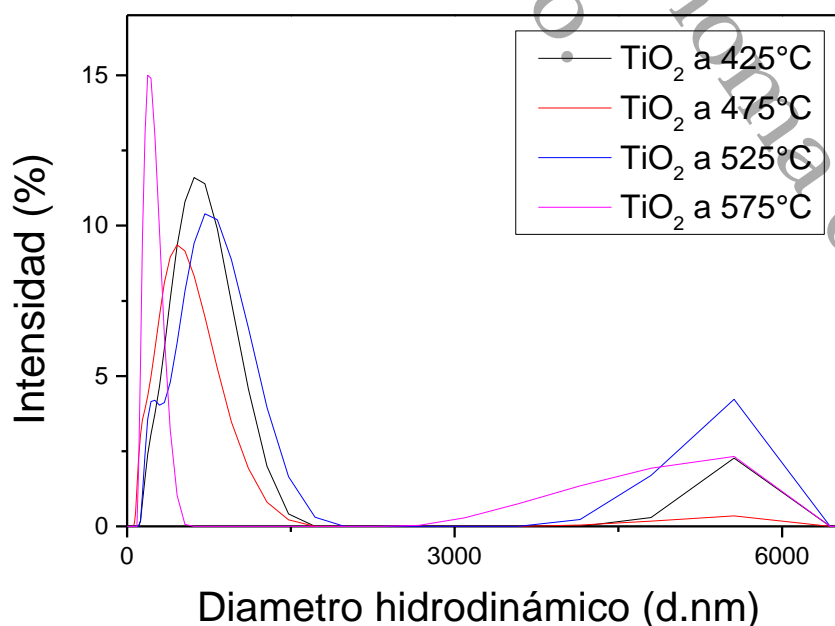


Figura 23. Diámetro hidrodinámico de los materiales de  $\text{TiO}_2$ , a diferentes temperaturas.

El diámetro hidrodinámico de los materiales base CuO y CuO/TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas en una solución coloidal se encuentra en la figura 24, donde se puede observar una disminución en la intensidad de los picos y ensanchamiento de estos, lo cual se puede atribuir a mayor tamaño de partícula de acuerdo con la literatura, en comparación con los materiales de TiO<sub>2</sub>, los composites presentan mayor Z-average el cual va desde 750nm en el material de 525°C y el menor es de 323 nm para la muestra a 575°C, sin embargo, es el mismo orden de mayor a menor que los materiales de TiO<sub>2</sub>. Con base en la observación física de la muestra, se señala la tendencia a precipitarse y es posible que los tamaños sean de aglomerados [6]. En ambos casos los materiales son polidispersos (que presentan diferentes tamaños).

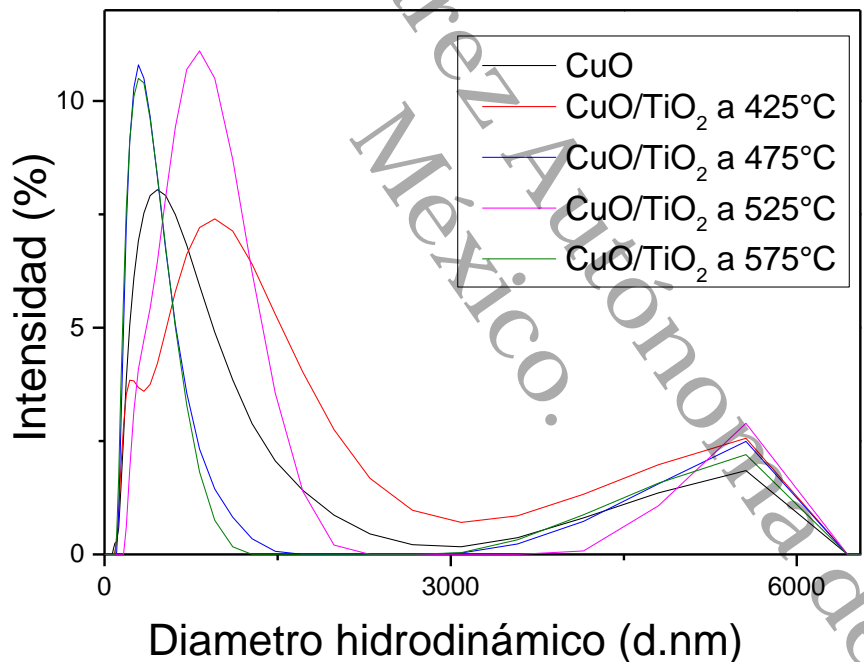


Figura 24. Diámetro hidrodinámico de los materiales de CuO y CuO/TiO<sub>2</sub> a diferentes temperaturas.

En la siguiente tabla se muestran los valores de Potencial Z, Z-average (diámetro de partícula armónico ponderado por intensidad) y PDI (índice de polidispersión) el cual es un indicativo del grado de homogeneidad en el tamaño de las partículas. Entre los materiales obtenidos, los correspondientes a 475 y 575° C presentan valores bajos de PDI lo que es indicativo de materiales menos polidispersos. Como se señala en el

Z-average, los materiales con menor tamaño de partícula son, TiO<sub>2</sub> a 575°C, y TiO<sub>2</sub> a 475°C y lo materiales con mayor tamaño son TiO<sub>2</sub> a 525°C y CuO/TiO<sub>2</sub> a 575°C, no se observa una gran variación en los valores de potencial Z.

**Tabla VI.** Resultados de DLS y ELS de los materiales de TiO<sub>2</sub>, CuO y CuO/TiO<sub>2</sub>

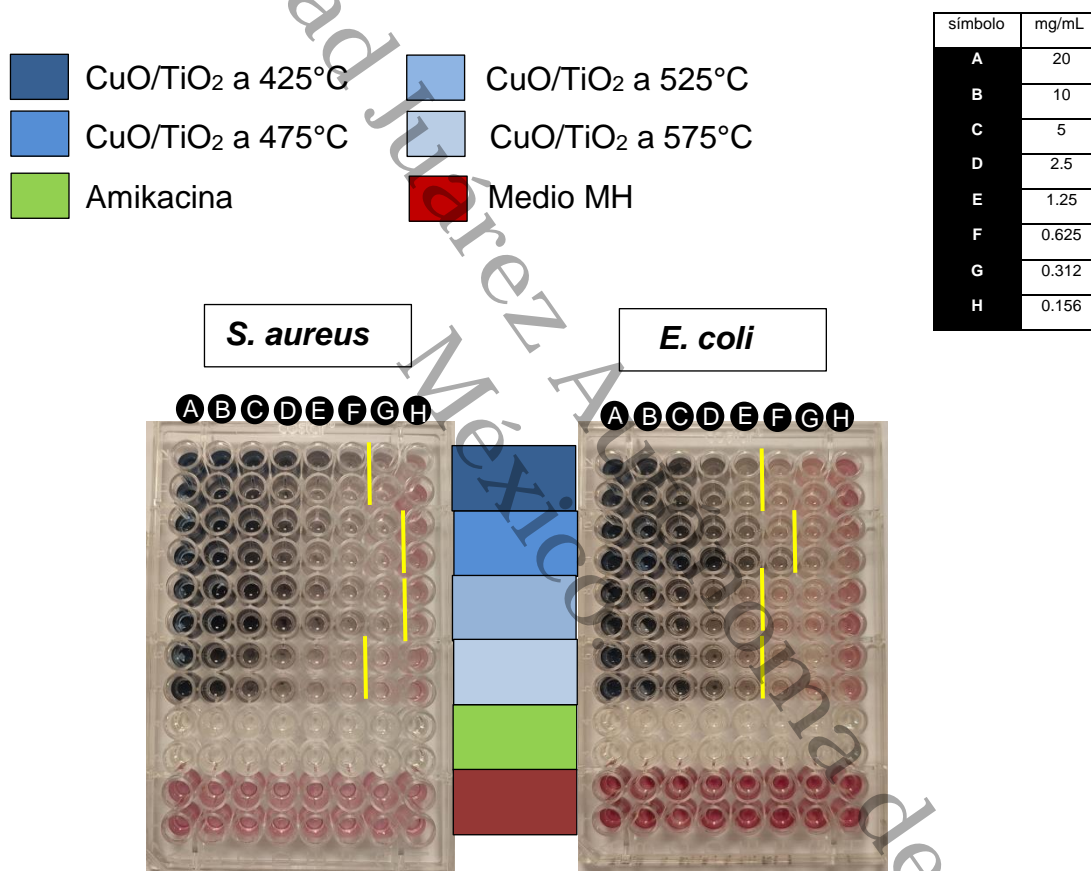
Material	Potencial Z (mV)	Z-Average (d.nm)	PDI
TiO <sub>2</sub> - 425 °C	-19.1	619.6	0.464
TiO <sub>2</sub> - 475 °C	-11	322.5	0.290
TiO <sub>2</sub> - 525 °C	-21	627.1	0.559
TiO <sub>2</sub> - 575 °C	-15.5	225	0.261
CuO	-15.9	444.9	0.357
CuO/TiO <sub>2</sub> - 425 °C	-15.4	578.5	0.507
CuO/TiO <sub>2</sub> - 475 °C	-16.1	348	0.328
CuO/TiO <sub>2</sub> - 525 °C	-15.7	750.6	0.329
CuO/TiO <sub>2</sub> - 575 °C	-19.7	323.2	0.288

Con base en los valores de PDI, se muestra que los materiales son polidispersos tal como se mostró en la gráfica, es importante conocer las distribuciones de polidispersión, ya que presenta diferentes tamaños en un medio líquido a causa de la formación de aglomerados en el agua, lo cual puede influenciar negativamente la actividad antimicrobiana ya que las partículas más pesadas tienden a aglomerarse y precipitarse más rápido, y al tener tamaños muy grandes, no permite que el material permee la pared celular de las bacterias. Con respecto al potencial Z, se obtuvieron valores negativos lo cual promueve la interacción entre la carga positiva de los microorganismos y el material.



#### 4.6 Actividad antimicrobiana mediante el método de microdilución

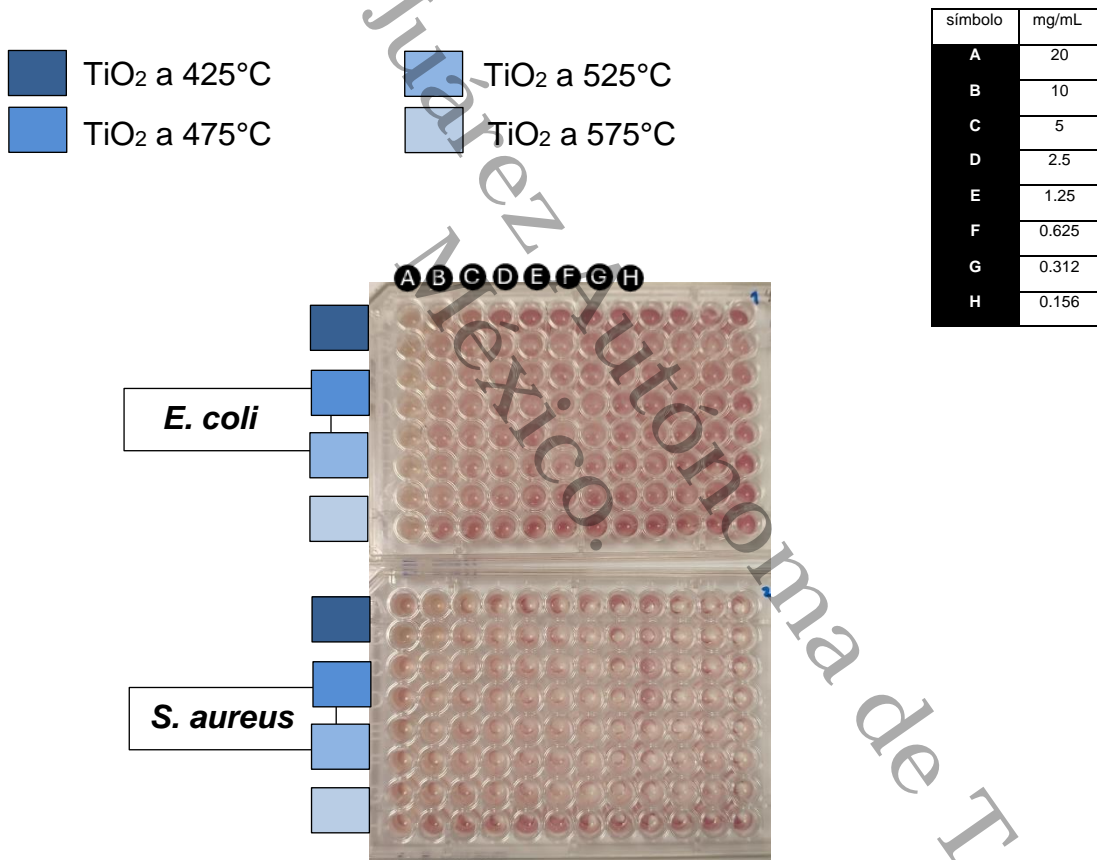
Se evaluó la actividad antimicrobiana de los materiales de CuO, TiO<sub>2</sub> y CuO/TiO<sub>2</sub> a 425, 475, 525, 575°C utilizando la técnica de microdilución en placas de 96 pozos, donde se determinó la concentración mínima inhibitoria de los materiales contra las cepas bacterianas modelo, *E. coli* y *S. aureus* empleando como controles la positivo a la inhibición la amikacina y como control negativo el medio MH. Tal como se muestra en la Figura 25.



**Figura 25.** Ensayo de microdilución para determinar el MIC de los materiales de CuO/TiO<sub>2</sub>, a diferentes temperaturas con colorante TTC.

A todos los materiales sintetizados se determinó el MIC, sin embargo, las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> no mostraron actividad inhibitoria en ninguna de las dos bacterias, presentando crecimiento incluso en concentraciones de 20 mg/mL, por lo que el MIC debe encontrarse a mayores concentraciones. Esta falta de actividad se demuestra en la Figura 26, donde

todos los pozos se colorearon de rojo debido a que, la acción enzimática de los microorganismos vivos en la muestra reduce las sales de tetrazolio del colorante, tornándolo en color rojizo por la acción de los cristales de formazan. La presencia de bacterias vivas posiblemente se debe a la falta de fotoactivación del  $\text{TiO}_2$ , a pesar de que algunos estudios [27-29] señalan que sin fotoactivación las propiedades antimicrobianas del  $\text{TiO}_2$  se mantiene (por la interacción de la diferencia de cargas entre las macromoléculas del microorganismo y el material, generando ROS y causando la oxidación y muerte de la célula), sin embargo, este efecto no se observó en los materiales sintetizados.



**Figura 26.** Ensayo de microdilución para determinar el MIC de los materiales de  $\text{TiO}_2$ , a diferentes temperaturas con colorante TTC.

Por otra parte, las nanopartículas de CuO presentaron una MIC de 0.625 mg/mL para *S. aureus*, en contraste con los resultados obtenidos en *E. coli*, donde se registró una MIC de 2.5 mg/mL.

Los compositos por mezcla mecánica (1:1) de CuO/TiO<sub>2</sub> mostraron una mayor actividad antimicrobiana que el cobre solo. Contra *S. aureus*, CuO/TiO<sub>2</sub> a 475 y 525°C fueron los materiales con la MIC más baja con valores de 0.312 mg/mL, seguidos de los materiales CuO/TiO<sub>2</sub> a 425 y 575°C con una MIC de 0.625 mg/mL, igual a la que presenta el CuO. Por otro lado, contra *E. coli* los materiales de CuO/TiO<sub>2</sub> a 425, 525 y 575°C presentan una MIC de 1.25 mg/mL siendo el material a 475°C el que presenta mejor MIC con 0.625 mg/mL. El composito de CuO/TiO<sub>2</sub> a 475°C fue el que presentó mayor inhibición en las dos cepas bacterianas tal como se observa en la siguiente tabla.

**Tabla VII.** Resultados de MIC en los materiales de CuO y CuO/TiO<sub>2</sub>.

Material	MIC	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
CuO	2.5 mg/mL	0.625 mg/mL
CuO/TiO <sub>2</sub> 425 °C	1.25 mg/mL	0.625 mg/mL
CuO/TiO <sub>2</sub> 475 °C	0.625mg/mL	0.312 mg/mL
CuO/TiO <sub>2</sub> 525 °C	1.25 mg/mL	0.312 mg/mL
CuO/TiO <sub>2</sub> 575 °C	1.25 mg/mL	0.625 mg/mL

Se ha reportado el efecto de los nanomateriales de CuO y TiO<sub>2</sub> en la inhibición de bacterias [44, 48-49] sin embargo, los materiales de TiO<sub>2</sub> no presentaron actividad antimicrobiana, por otro lado, el CuO y los compositos de CuO/TiO<sub>2</sub> presentan MIC en la inhibición de *E. coli* y *S. aureus*. Uno de los principales objetivos era evaluar la influencia del CuO en combinación con los materiales de titanio a diferentes fases para determinar si estas fases contribuían a mejorar la actividad antimicrobiana, lo cual se confirma. A pesar de que todos los materiales que contienen CuO muestran actividad inhibitoria siendo mayor en bacterias Gram positivas (*S. aureus*), resalta el material de CuO/TiO<sub>2</sub> a

475°C ya que, en comparación con los otros, obtuvo la MIC más baja en *E. coli* (Gram negativa), esto se atribuye a diversos factores que en conjunto mostraron este efecto, sin embargo el PDI señaló que si bien este material contiene diferentes tamaños hidrodinámicos de partículas, no existe tanta variación con respecto a los otros materiales que forman aglomerados y se precipitan a mayor velocidad, y al presentar un tamaño promedio de partícula bajo con respecto a los otros materiales promovió una mayor actividad inhibitoria. Los resultados de MEB confirman la formación de aglomerados, lo cual puede afectar en la actividad inhibitoria de los materiales sintetizados.

Existen variaciones que pueden modificar los resultados obtenidos, lo cual tiene relación con los tamaños de partícula (las más grandes se precipitan más rápido), por lo tanto, si se toman las partículas superficiales (de menor tamaño) es posible obtener resultados variables, ya que, se ha reportado que tamaños pequeños de cristalito muestran una mayor actividad antimicrobiana [3, 7, 10, 19].

En este trabajo se realizaron los ensayos por duplicado y en diferentes ocasiones, y los resultados obtenidos fueron congruentes con lo reportado, es decir, la reproducibilidad es comprobable.

## CAPITULO V: CONCLUSIONES

En este trabajo se obtuvieron polvos nanoestructurados de  $\text{TiO}_2$  con una combinación de fases anatasa y rutilo a través del control de la temperatura (425, 475, 525, y 575°C) con el método sol-gel. Del mismo modo, se obtuvieron nanopartículas de  $\text{CuO}$  con el 100% de la fase tenorita mediante el método Pechini. Con la mezcla mecánica se obtuvieron los compositos de  $\text{CuO}/\text{TiO}_2$  con presencia de las fases; anatasa, rutilo y tenorita para su evaluación en la actividad antimicrobiana en la inhibición de biopelículas en superficies construidas, a partir de lo cual se puede concluir lo siguiente:

Las técnicas de DRX y refinamiento Rietveld determinaron la presencia y porcentaje de fases presentes en los materiales. Por lo cual se concluye que la combinación de fases anatasa y rutilo, promovió la actividad antimicrobiana en los materiales de titanio combinados con cobre. Siendo los compositos de  $\text{CuO}/\text{TiO}_2$  los materiales con mayor inhibición incluso que el cobre solo. También con estas caracterizaciones se obtuvo el tamaño de cristalito, observando un incremento de tamaño con respecto a la temperatura, sin embargo, la influencia de la fase tenorita promovió la disminución de tamaño de cristalito, lo que permitió que los materiales presentaran un menor tamaño de partícula hidrodinámico. Las micrografías de MEB-EDS mostraron materiales con aglomerados y sin presencia de impureza. Con esto se comprueba el eficiente método de síntesis. Con los análisis DLS y ELS se obtuvo el tamaño promedio de partícula con valores desde ~225 nm hasta ~750nm, y materiales polidispersos (con partículas de diferentes tamaños), posiblemente por la formación de aglomerados. También se obtuvo potencial Z entre -11mV y -21mV en interacción con un medio líquido, aunque los materiales presentan una precipitación muy marcada con respecto al tiempo y esto promueve la formación de aglomerados ya que son polidispersos. Aunque no se encontró actividad contra el  $\text{TiO}_2$  solo, se obtuvo una buena actividad en la inhibición de las bacterias de estudio, entre los materiales destacó el composito a 475°C con una mayor inhibición, sin embargo, la diferencia entre los otros compositos no es muy grande ya que no se observó una relación entre los PDI y el incremento de temperatura, esto se atribuye a la influencia de la molienda de los polvos.

En el Análisis de FTIR- ATR se comprobó que los compuestos presentan las vibraciones del enlace M-O del  $\text{TiO}_2$  y  $\text{CuO}$  sin rastros de impurezas, ya que no se observaron señales características de compuestos orgánicos que se puedan atribuir a algún residuo de los reactivos utilizados en la síntesis. No se observó una variación significativa entre las bandas de los materiales sintetizados con lo que se puede suponer que el método de síntesis fue correctamente empleado.

Con lo descrito anteriormente se puede concluir que los materiales sintetizados de  $\text{CuO}$ ,  $\text{CuO/TiO}_2$  a diferentes temperaturas cumplen con los requerimientos necesarios para emplearse en el área de construcción y ser agentes de desinfección en superficies construidas y edificios enfermos, ya que presentan actividad antimicrobiana contra bacterias modelo, una Gram positiva y una Gram negativa, lo que les permite inhibir la formación de biopelículas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## CAPITULO VI: RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

De acuerdo con los resultados encontrados en este proyecto se sugieren las siguientes recomendaciones y perspectivas para ser tomadas en cuenta:

- Se sugiere fotoactivar los materiales de  $\text{TiO}_2$  con luz ultravioleta a 254nm antes de usarse en el ensayo de actividad antimicrobiana, para evaluar el efecto fotocatalítico del par electrón hueco y su interacción en la formación de especies reactivas contra los microorganismos como un mecanismo de acción.
- Evaluar la actividad antimicrobiana contra otros grupos de bacterias con diferente morfología, así como la actividad antifúngica en hongos y determinar la influencia de las fases de los materiales y su tamaño de partícula.
- Realizar pruebas en concreto para estudiar su interacción con los materiales.
- Realizar el análisis BET para conocer el área superficial específica de los materiales y evaluar como el material interacciona con la bacteria y cuál es su área de contacto con la misma para confirmar si hay relación en la actividad antimicrobiana y el área superficial específica.

A1. PDF utilizado en DRX y Rietveld correspondiente a la fase anatasa.

00-004-0477

(D8-Controller)

## PDF Card

**Status:** Deleted **Quality Mark:** Indexed **Environment:** Ambient  
**Temperature of Data Collection:** 298.0 K (Assigned by ICDD editor) **Chemical Formula:** Ti O<sub>2</sub>  
**Empirical Formula:** O<sub>2</sub> Ti **Weight %:** O40.06 Ti59.94 **Atomic %:** O66.67 Ti33.33  
**Compound Name:** Titanium Oxide **Mineral Name:** Anatase, syn **Entry Date:** 09/01/1954

## Experimental

**Radiation:** CuK $\alpha$ 1 (1.5405 Å) **Filter:** Ni Beta **d-Spacing:** Diffractometer  
**Intensity:** Diffractometer - Peak

## Physical

**Crystal System:** Tetragonal **SPGR:** I4<sub>1</sub>/amd (141)

Author's Unit Cell		
a: 3.783 Å	c: 9.51 Å	Volume: 136.10 Å <sup>3</sup>
Z: 4.00	MolVol: 34.02	c/a: 2.514

**Calculated Density:** 3.898 g/cm<sup>3</sup> **SS/FOM:** F(25) = 8.3(0.0624, 48)

## Crystal

### ICDD Calculated Parameters

**Space Group:** I4<sub>1</sub>/amd (141) **Molecular Wt:** 79.86 g/mol

Crystal Data		
a: 3.783 Å	b: 3.783 Å	c: 9.510 Å
$\alpha$ : 90.00°	$\beta$ : 90.00°	$\gamma$ : 90.00°
Volume: 136.10 Å <sup>3</sup>	Z: 4.00	c/a: 2.514
a/b: 1.000	c/b: 2.514	

Reduced Cell		
a: 3.783 Å	b: 3.783 Å	c: 5.456 Å
$\alpha$ : 110.29°	$\beta$ : 110.29°	$\gamma$ : 90.00°
Volume: 68.05 Å <sup>3</sup>		



## Structure

Atomic parameters are cross-referenced from PDF entry 04-002-2750

AC Space Group: I41/amd (141)

AC Unit Cell		
a: 3.784 Å	b: 3.784 Å	c: 9.515 Å
α: 90°	β: 90°	γ: 90°

### Space Group Symmetry Operators:

Seq	Operator	Seq	Operator	Seq	Operator
1	x,y,z	7	-x+1/2,y,-z+3/4	13	-y+1/2,x+1/2,-z+1/2
2	-x+1/2,-y+1/2,z+1/2	8	x,-y+1/2,-z+1/4	14	y,-x,-z
3	x+1/2,y,-z+3/4	9	y+1/2,x+1/2,-z+1/2	15	-y,x+1/2,z+1/4
4	-x,-y+1/2,-z+1/4	10	-y,-x,-z	16	y+1/2,-x,z+3/4
5	-x,y,z	11	y,x+1/2,z+1/4		
6	x+1/2,-y+1/2,z+1/2	12	-y+1/2,-x,z+3/4		

Origin Of Unit Cell: O1

### Atomic Coordinates:

Atom	Num	Wyckoff	Symmetry	x	y	z	SOF	IDP	AET
Ti	1	4a	-4m2	0.0	0.0	0.0	1.0		6-a
O	2	8e	2mm.	0.0	0.0	0.2081	1.0		3#b

Crystal (Symmetry Allowed): Centrosymmetric AC Space Group: I41/amd (141)

## Classifications

**Subfiles:** Common Phase, Forensic, Inorganic, Metal & Alloy, Mineral Related (Mineral, Synthetic), Pharmaceutical (Excipient), Pigment/Dye

**Pearson Symbol:** tI12.00 **Prototype Structure (Formula Order):** Ti O2

**Prototype Structure (Alpha Order):** O2 Ti

**LPF Prototype Structure (Formula Order):** Ti O2,tI12,141

**LPF Prototype Structure (Alpha Order):** O2 Ti,tI12,141

## Cross-references

**Cross-Ref PDF #'s:** 04-002-2750 (Alternate)

## References

Type	DOI	Reference
Primary Reference		Swanson, Tatge. Private Communication 1950.
Additional Pattern		Parker. Z. Kristallogr. 1923, 59, 1.
Crystal Structure		Crystal Structure Source: LPF.

00-004-0477

(D8-Controller)

### Comments

Database Comments: Warning: One or more lines are unindexed.

d-spacings (27) - Ti O2 - 00-004-0477 (Stick, Fixed Slit Intensity) - X-ray (Cu K $\alpha$ 1 1.54056

$2\theta$ (°)	d (Å)	I	h	k	l	*	$2\theta$ (°)	d (Å)	I	h	k	l	*
25.354	<b>3.5100</b>	100	1	0	1		83.138	1.1609	3	3	1	2	
36.883	2.4350	9	1	0	3		90.258	1.0869	3				
37.784	<b>2.3790</b>	22	0	0	4		95.175	1.0433	3	3	2	1	
38.506	2.3360	9	1	1	2		98.433	1.0173	2	1	0	9	
48.076	<b>1.8910</b>	33	2	0	0		107.525	0.9550	4	3	1	6	
53.921	1.6990	21	1	0	5		109.009	0.9461	3	4	0	0	
55.114	1.6650	19	2	1	1		113.914	0.9189	2	3	2	5	
62.073	1.4940	4	2	1	3		118.563	0.8960	3	1	1	10	
62.726	1.4800	13	2	0	4		120.391	0.8877	2	2	2	8	
68.594	1.3670	5	1	1	6		135.889	0.8311	<1	3	2	7	
70.357	1.3370	5	2	2	0		137.384	0.8268	3	4	1	5	
75.092	1.2640	10	2	1	5		143.965	0.8100	1	3	0	9	
76.082	1.2500	3	3	0	1		149.183	0.7990	3				
82.264	1.1710	2	3	0	3								

A2. PDF utilizado en DRX y Rietveld correspondiente a la fase rutilo.

00-004-0551

(D8-Controller)

## PDF Card

**Status:** Deleted **Quality Mark:** Indexed **Environment:** Ambient  
**Temperature of Data Collection:** 298.0 K (Assigned by ICDD editor) **Chemical Formula:** Ti O<sub>2</sub>  
**Empirical Formula:** O<sub>2</sub>Ti **Weight %:** O40.06 Ti59.94 **Atomic %:** O66.67 Ti33.33  
**Compound Name:** Titanium Oxide **Mineral Name:** Rutile **Entry Date:** 09/01/1954

## Experimental

**Radiation:** CuK $\alpha$ 1 (1.5405 Å) **Filter:** Ni Beta **Intensity:** Diffractometer - Peak

## Physical

**Crystal System:** Tetragonal **SPGR:** P4<sub>2</sub>/mnm (136)

Author's Unit Cell		
a: 4.594 Å	c: 2.958 Å	Volume: 62.43 Å <sup>3</sup>
c/a: 0.644		

**SS/FOM:** F(30) = 29.1(0.0251, 41)

## Crystal

### ICDD Calculated Parameters

**Space Group:** P4<sub>2</sub>/mnm (136) **Molecular Wt:** 79.86 g/mol

Crystal Data		
a: 4.594 Å	b: 4.594 Å	c: 2.958 Å
$\alpha$ : 90.00°	$\beta$ : 90.00°	$\gamma$ : 90.00°
Volume: 62.43 Å <sup>3</sup>	c/a: 0.644	a/b: 1.000
c/b: 0.644		

Reduced Cell		
a: 2.958 Å	b: 4.594 Å	c: 4.594 Å
$\alpha$ : 90.00°	$\beta$ : 90.00°	$\gamma$ : 90.00°
Volume: 62.43 Å <sup>3</sup>		

## Structure

Atomic parameters are cross-referenced from PDF entry 04-003-0648

AC Space Group: P42/mnm (136)

AC Unit Cell		
a: 4.594(3) Å	b: 4.594(3) Å	c: 2.959(2) Å
$\alpha$ : 90°	$\beta$ : 90°	$\gamma$ : 90°

### Space Group Symmetry Operators:

Seq	Operator	Seq	Operator	Seq	Operator
1	x,y,z	7	-x+1/2,y+1/2,z+1/2	13	y+1/2,-x+1/2,z+1/2
2	-x,-y,-z	8	x+1/2,-y+1/2,-z+1/2	14	-y+1/2,x+1/2,-z+1/2
3	-x,-y,z	9	y,x,z	15	-y+1/2,x+1/2,z+1/2
4	x,y,-z	10	-y,-x,-z	16	y+1/2,-x+1/2,-z+1/2
5	x+1/2,-y+1/2,z+1/2	11	-y,-x,z		
6	-x+1/2,y+1/2,-z+1/2	12	y,x,-z		

Atomic Displacement Parameter Type: B

### Atomic Coordinates:

Atom	Num	Wyckoff	Symmetry	x	y	z	SOF	Biso	AET
O	1	4f	m.2m	0.306	0.306	0.0	1.0	0.7	3#b
Ti	2	2a	m.m	0.0	0.0	0.0	1.0	0.7	6-a

Crystal (Symmetry Allowed): Centrosymmetric AC Space Group: P42/mnm (136)

## Classifications

**Subfiles:** Common Phase, Forensic, Inorganic, Metal & Alloy, Mineral Related (Mineral, Natural), Pharmaceutical (Excipient), Pigment/Dye

**Mineral Classification:** Rutile (supergroup), 1Q (group) **Pearson Symbol:** tP?

## Cross-references

**Cross-Ref PDF #'s:** 00-002-0406 (Deleted), 04-003-0648 (Primary)

## References

Type	DOI	Reference
Primary Reference Crystal Structure		Swanson, Tatge, JC Fel. Reports, NBS. Private Communication 1950. Crystal Structure Source: LPF.

## Comments

**Database Comments:** Warning: Lines with  $\text{abs}(\Delta 2\theta) > 0.06$  DEG.

00-004-0551

(D8-Controller)

d-spacings (31) - Ti O2 - 00-004-0551 (Stick, Fixed Slit Intensity) - X-ray (Cu Ka1 1.54056)

2 $\theta$ (°)	d (Å)	I	h	k	l	*	2 $\theta$ (°)	d (Å)	I	h	k	l	*
27.463	<b>3.2450</b>	100	1	1	0		87.491	1.1140	1	4	1	0	
36.055	<b>2.4890</b>	41	1	0	1		89.586	1.0933	4	2	2	2	
39.187	2.2970	7	2	0	0		90.705	1.0827	4	3	3	0	
41.225	2.1880	22	1	1	1		95.284	1.0424	5	4	1	1	
44.050	2.0540	9	2	1	0		96.051	1.0361	4	3	1	2	
54.336	<b>1.6870</b>	50	2	1	1		97.148	1.0273	3	4	2	0	
56.629	1.6240	16	2	2	0		106.047	0.9642	2	1	0	3	
62.726	1.4800	8	0	0	2		116.243	0.9071	3	4	0	2	
64.029	1.4530	6	3	1	0		117.564	0.9007	3	5	1	0	
68.997	1.3600	16	3	0	1		120.054	0.8892	5	2	1	3	
69.758	1.3470	7	1	1	2		122.807	0.8773	6	5	0	1	
72.350	1.3050	1	3	1	1		123.630	0.8739	5	3	3	2	
76.588	1.2430	3	2	0	2		131.841	0.8437	5	4	2	2	
79.867	1.2000	1	2	1	2		136.611	0.8290	5	3	0	3	
82.350	1.1700	4	3	2	1		140.044	0.8196	8	5	2	1	
84.240	1.1485	4	4	0	0								

Universidad Juárez  
Autónoma de Tabasco.  
México.

A3. PDF utilizado en DRX y Rietveld correspondiente a la fase tenorita.

00-048-1548

(D8-Controller)

## PDF Card

**Status:** Primary **Quality Mark:** Star **Environment:** Ambient  
**Temperature of Data Collection:** 298.0 K (Assigned by ICDD editor) **Chemical Formula:** Cu O  
**Empirical Formula:** Cu O **Weight %:** Cu79.89 O20.11 **Atomic %:** Cu50.00 O50.00  
**Compound Name:** Copper Oxide **Mineral Name:** Tenorite, syn **Entry Date:** 09/01/1998

## Experimental

**Radiation:** CuK $\alpha$ 1 (1.5406 Å) **Filter:** Ge Mono **d-Spacing:** Diffractometer **Cutoff:** 3.00 Å  
**Intensity:** Diffractometer - Integrated

## Physical

**Crystal System:** Monoclinic **SPGR:** C2/c (15)

Author's Unit Cell		
<b>a:</b> 4.6883(4) Å	<b>b:</b> 3.4229(2) Å	<b>c:</b> 5.1319(3) Å
<b><math>\beta</math>:</b> 99.506(4)°	<b>Volume:</b> 81.22 Å <sup>3</sup>	<b>Z:</b> 4.00
<b>MolVol:</b> 20.30	<b>c/a:</b> 1.095	<b>a/b:</b> 1.370
<b>c/b:</b> 1.499		

**Calculated Density:** 6.505 g/cm<sup>3</sup> **SS/FOM:** F(30) = 65.5(0.0148, 31)

## Crystal

### ICDD Calculated Parameters

**Space Group:** A2/a (15) **Molecular Wt:** 79.54 g/mol

Crystal Data		
<b>a:</b> 5.132 Å	<b>b:</b> 3.423 Å	<b>c:</b> 4.688 Å
<b><math>\alpha</math>:</b> 90.00°	<b><math>\beta</math>:</b> 99.51°	<b><math>\gamma</math>:</b> 90.00°
<b>Volume:</b> 81.22 Å <sup>3</sup>	<b>Z:</b> 4.00	<b>c/a:</b> 0.913
<b>a/b:</b> 1.499	<b>c/b:</b> 1.370	

00-048-1548

(D8-Controller)

Reduced Cell		
a: 2.902 Å	b: 2.902 Å	c: 5.132 Å
$\alpha$ : 82.33°	$\beta$ : 82.33°	$\gamma$ : 72.27°
Volume: 40.61 Å <sup>3</sup>		

## Structure

Atomic parameters are cross-referenced from PDF entry 04-004-5425

AC Space Group: C12/c1 (15)

AC Unit Cell		
a: 4.6881 Å	b: 3.4228 Å	c: 5.1321 Å
$\alpha$ : 90°	$\beta$ : 99.497°	$\gamma$ : 90°

Space Group Symmetry Operators:

Seq	Operator	Seq	Operator	Seq	Operator	Seq	Operator
1	x,y,z	2	-x,-y,-z	3	-xy,z+1/2	4	x,-y,z+1/2

Atomic Coordinates:

Atom	Num	Wyckoff	Symmetry	x	y	z	SOF	IDP	AET
O	1	4e	2	0.0	0.0816	0.25	1.0		4-a
Cu	2	4c	-1	0.25	0.25	0.0	1.0		4#c

Crystal (Symmetry Allowed): Centrosymmetric AC Space Group: C12/c1 (15)

## Classifications

**Subfiles:** Battery Material, Common Phase, Forensic, Inorganic, Metal & Alloy, Mineral Related (Mineral, Synthetic), Superconducting Material

**Pearson Symbol:** mC8.00 **Prototype Structure (Formula Order):** Cu O

**Prototype Structure (Alpha Order):** Cu O

**LPF Prototype Structure (Formula Order):** Cu O,mS8,15

**LPF Prototype Structure (Alpha Order):** Cu O,mS8,15 **ANX:** AX

## Cross-references

**Cross-Ref PDF #'s:** 00-005-0661 (Alternate), 00-044-0706 (Primary), 00-045-0937 (Alternate), 04-004-4915 (Alternate), 04-004-4916 (Alternate), 04-004-5425 (Alternate), 04-004-5685 (Alternate), 04-005-4712 (Alternate), 04-006-4186 (Alternate), 04-007-1375 (Primary), 04-008-2756 (Alternate), 04-008-5229 (Alternate), 04-008-8215 (Alternate), 04-009-2287 (Alternate), 04-012-7238 (Alternate)

## ANEXOS

<b>Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional</b>	
<b>Título de Tesis:</b>	Actividad antibacteriana de nanomateriales de CuO, TiO <sub>2</sub> y CuO/TiO <sub>2</sub> con potencial aplicación en superficies construidas
<b>Autor de la Tesis:</b>	Ing. Zurisadai Martínez Corona
<b>ORCID</b>	<a href="https://orcid.org/0009-0000-8611-0769">https://orcid.org/0009-0000-8611-0769</a>
<b>Resumen de la Tesis:</b>	<p>En el presente trabajo se sintetizaron nanomateriales de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) por el método sol-gel con combinación de fases (anatasa y rutilo) mediante el control de la temperatura, realizando tratamientos a 425, 475, 525 y 575°C. Los materiales de óxido de cobre (CuO) se obtuvieron por el método Pechini. También se realizó una mezcla mecánica de TiO<sub>2</sub>/CuO en proporción 1:1. Las propiedades antimicrobianas de los materiales se evaluaron para determinar su potencial aplicación en la industria de la construcción, específicamente para inhibir la formación de biopelículas en superficies. Los resultados de difracción de rayos X (DRX) y la técnica de Refinamiento Rietveld muestran que la fase rutilo aumenta, teniendo 8.42% a 425°C y 91.65% a 525°C y la fase anatasa disminuye al incrementar la temperatura,</p>



	<p>pasó de 93.58% en 425°C a 8.35% en 525°C. En los materiales de CuO se observó la fase tenorita y en los compositos hay una combinación de fases anatasa, rutilo y tenorita, la presencia de la fase tenorita favoreció en la respuesta antimicrobiana de los materiales. Los espectros de FTIR (espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier) mostraron la presencia de señales correspondientes a las vibraciones de Ti-O y de Cu-O en <math>\sim 530 \text{ cm}^{-1}</math> observando ligeros cambios respecto a los materiales obtenidos por sol-gel, mientras que los obtenidos por mezcla mecánica no presentaron cambios importantes con respecto a la temperatura.</p> <p>Con los análisis DLS y ELS se obtuvo el tamaño promedio de partícula con valores desde <math>\sim 225 \text{ nm}</math> a <math>\sim 750 \text{ nm}</math> con potencial Z entre <math>-11 \text{ mV}</math> y <math>-21 \text{ mV}</math>. Finalmente, en las evaluaciones de MIC se encontró que el material de CuO/TiO<sub>2</sub> a 475°C tuvo mayor actividad inhibitoria para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> con respecto a los otros materiales de CuO/TiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub> y CuO. Este material inhibe la formación de biopelículas en superficies, evitando la proliferación de las bacterias al ambiente.</p>
<p><b>Palabras clave de la Tesis:</b></p>	<p>TiO<sub>2</sub>, CuO, biopelícula, actividad antimicrobiana, superficies construidas.</p>

## REFERENCIAS

- [1] C. Pragathiswaran, C. Smitha, H. Barabadi, M. M. Al-Ansari, L. A Al-Humaid, M. Saravanan (2020). TiO<sub>2</sub>@ZnO nanocomposites decorated with gold nanoparticles: Synthesis, characterization and their antifungal, antibacterial, anti-inflammatory and anticancer activities. *Inorganic Chemistry Communications*, 121, 108210.
- [2] F. Giacometti, A. Pezzi, G. Galletti, M. Tamba, G. Merialdi, S. Piva, S. Rubini. (2021). Antimicrobial resistance patterns in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* and *Escherichia coli* isolated from bivalve molluscs and marine environment. *Food Control*.
- [3] G. Shaghayegh, C. Cooksley, G. Bouras, B. Subashini, S. Feizi, S. Javadian, M. Ramezanpour, K. Aaron, P. Wormald, A. James, S, Vreugde (2024). *S. aureus* biofilm properties correlate with immune B cell subset frequencies and severity of chronic rhinosinusitis, *Clinical Immunology*, Volume 263, 110221.
- [4] OMS. (2016). OMS | La OMS recomienda 29 formas de detener las infecciones quirúrgicas y evitar microorganismos multirresistentes.
- [5] P. Maheswari, S. Ponnusamy, S. Harish, M.R. Ganesh, Y. Hayakawa. Hydrothermal synthesis of pure and bio modified TiO<sub>2</sub>: Characterization, evaluation of antibacterial activity against Gram positive and Gram negative bacteria and anticancer activity against KB Oral cancer cell line. *Arabian Journal of Chemistry* (2020), 13, 3484-3497.
- [6] Z. Ye, Z. Ye, A. Nikiforov, J. Chen, W. Zhou, J. Chen, G. Wang, Y. Zhang. Influence of mixed-phase TiO<sub>2</sub> on the activity of adsorption-plasma photocatalysis for total oxidation of toluene. *Chemical Engineering Journal* (2020) S1385-8914

- [7] S. Moniri Javadhesari, S. Alipour, S. Mohammadnejad, M.R. Akbarpour. Antibacterial activity of ultra-small copper oxide (II) nanoparticles synthesized by mechanochemical processing against *S. aureus* and *E. coli*. *Materials Science and Engineering C* (2019) 105, 110011.
- [8] G. Guan, L. Zhang, J. Zhu, H. Wu, W. Li, Q. Sun. Antibacterial properties and mechanism of biopolymer-based films functionalized by CuO/ZnO nanoparticles against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hazardous Materials* (2021) 402, 123542.
- [9] X. Zhang, G. Zhang, M. Chai, X. Yao, W. Chen, P. K. Chu. Synergistic antibacterial activity of physical-chemical multi-mechanism by TiO<sub>2</sub> nanorod arrays for safe biofilm eradication on implant. *Bioactive Materials* (2021) 6, 12-25.
- [10] Y. Cai, F. Yang, L. Wu, Y. Shu, G. Qu, A. Fakhri, V.K. Gupta. Hydrothermal-ultrasonic synthesis of CuO nanorods and CuWO<sub>4</sub> nanoparticles for catalytic reduction, photocatalysis activity, and antibacterial properties. *Materials Chemistry and Physics*. (2021) 258,123919.
- [11] W. Serevarit, S. Moonmangmee, P. Phapagrangkul, S. Kuboon, A. Klamchuen, N. Saito, C. Ponchio. Photoelectrocatalytic H<sub>2</sub> Evolution Enhancement over CuO- decorated TiO<sub>2</sub> Nanocatalysts and Promoting *E. coli* Degradation. *Journal of Alloys and Compounds*. (2020)
- [12] P. Hajipour, A. Eslami, A. Bahrami, A. Hosseini-Abari, F. Yousef Saber, R. Mohammadi, M. Yazdan Mehr. (2021) Surface modification of TiO<sub>2</sub> nanoparticles with CuO for visible-light antibacterial applications and photocatalytic degradation of antibiotics, *Ceramics International*, Volume 47, Pages 33875-33885.

- [13] A. Sharma, K. Saini, N. Kumar, N. Tejwan, A. Singh, V. Kumar Thakur, J. Das, (2022) Methods of preparation of metal-doped and hybrid tungsten oxide nanoparticles for anticancer, antibacterial, and biosensing applications, *Surfaces and Interfaces*, Volume 28 ,101641.
- [14] K. León, A. López, J. Gago, J. Solis (2019). Síntesis del óxido de cobre nanoestructurado asistida con irradiación gamma o ultrasonido y sus propiedades antimicrobianas. *Revista ECIPeru*.
- [15] J. Ryan, P. Jacob, A. Lee, Z. Gagnon, E. Pavel (2022). Biodistribution and toxicity of antimicrobial ionic silver (Ag<sup>+</sup>) and silver nanoparticle (AgNP<sup>+</sup>) species after oral exposure, in Sprague-Dawley rats, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 166, 113228.
- [16] T. Naseem, T. Durrani, (2021) The role of some important metal oxide nanoparticles for wastewater and antibacterial applications: A review, *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, Volume 3, 2021, Pages 59-75.
- [17] C. Betancur, P. Hernández, V. Montes, B. Sierra. (2016). Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*.
- [18] D. Tekin, D. Birhan, H. Kiziltas. (2020) Thermal, photocatalytic, and antibacterial properties of calcinated nano-TiO<sub>2</sub>/polymer composites. *Materials Chemistry and Physics*, 251, 123067.
- [19] M. Mintu Ali, Md. Jahidul Haque, M. Humayan Kabit, M. Abdul Kaiyum, M.S. Rahman (2021). Nano synthesis of ZnO-TiO<sub>2</sub> composites by sol-gel method and evaluation of their bacterial, optical and photocatalytic properties. *Results in Materials* 11, 100199.

- [20] Y. Xie, X. Hu, Y. Zhang, F. Wahid, L. Chu, S. Jia, C. Zhong (2019). Development and antibacterial activities of bacterial cellulose/graphene oxide-CuO nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers* S0144-8617.
- [21] S. Liu, J. Ru, F. Liu (2021). NiP/CuO composites: Electroless plating synthesis, antibiotic photodegradation and antibacterial properties. *Chemosphere* 267,129220.
- [22] P. Bamola, A. Bhoumik, C. Dwivedi, V. Kaushik, H. Sharma (2020). Enhanced photocatalytic activity in TiO<sub>2</sub> mixed phase nanostructures. *Materials proceedings* 28, 1, 32-36.
- [23] G. Xu, Y. Zhang, D. Peng, D. Sheng, Y. Tian, D. Ma, Y. Zhang (2021). Nitrogen-doped mixed phase TiO<sub>2</sub> with controllable phase junction as superior visible light photocatalyst for selective oxidation of cyclohexane. *Applied Surface Science* 536, 147953.
- [24] Y. Li, Y. Dong, Y. Zhang, Y. Yang, R. Hu, P. Mu, Q. Huang. (2020). Synergistic effect of crystalline phase on protein adsorption and cell behaviors on TiO<sub>2</sub> nanotubes. *Applied Nanoscience (Switzerland)*.
- [25] C. Betancur, V. Hernández, R. Buitrago (2016) Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*; 35(4).
- [26] A. Estrada-Monje, J.M. Andreu, J. Cruz-Salgado (2016). PELICULAS DE LDPE/NANO-TiO<sub>2</sub> CON PROPIEDADES ANTIBACTERIALES INDUCIDAS POR ULTRASONIDO. *Revista mexicana de ingeniería química*. Vol. 15, N° 3 953-960.
- [27] R. Zarchi, S. Javed, A. Ghani, M. Soufian, S. Firouzabadi, F. Moghaddam, A. Mirjalili, S. (2010). *Iran Journal of Pathology* 5, 83-89.

- [28] M. Moslem, M. Kiani, F. Rezaei, R. Souri, M. Safae (2021) Optimized synthesis of novel hydroxyapatite/CuO/TiO<sub>2</sub> nanocomposite with high antibacterial activity against oral pathogen Streptococcus mutans, Ceramics International, Volume 47, Issue 23, Pages 33398-33404.
- [29] J. Wang, Z. Wang, D. Zhao, Y. Liang, H. Wang, N. Wang, W. Jiang, S. Liu, C. Liu, W. Ding, Z. Zhang, (2022) Preparation, structural and photocatalytic activity of Sn/Fe co-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles by sol-gel method, Ceramics International, Volume 48, Issue 6, Pages 8297-8305.
- [30] E. Mosquera, N. Rosas, V. Guerrero, (2020). Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Dióxido de Titanio Obtenidas por el Método de Sol-Gel. Revista Politécnica,
- [31] G. Salas, N. Rosas, S. Galeas, V. Guerrero, A. Debut, (2016). Síntesis de Nanopartículas de ZnO por el Método de Pechini. Revista Politécnica (1st ed.).
- [32] A. Mohajerani, L. Burnett, J. Smith, H. Kurmus, J. Milas, A. Arulrajah, S. Horpibulsuk, A. Kadir, (2019). Nanoparticles in Construction Materials and Other Applications, and Implications of Nanoparticle Use. Materials, 12(19).
- [33] D. Papadaki, G. Kiriakidis, T. Tsoutsos. (2018). Applications of nanotechnology in construction industry. Fundamentals of Nanoparticles: Classifications, Synthesis Methods, Properties and Characterization, 343–370.
- [34] N. Salemi, K. Behfarnia, (2013). Effect of nano-particles on durability of fiber-reinforced concrete pavement. Construction and Building Materials, 48, 934–941.
- [35] P. Llamosas, P. Arrizabalaga, M. Bonet, X. de la Fuente (2006). Hipersensibilidad química múltiple en el síndrome del edificio enfermo, Medicina Clínica, Volume 126, Issue 20, Pages 774-778.

- [36] M. Mollinedo, C. Gonzáles, (2014) Bacterias Gram Negativas. Revista de Actualización Clínica; 49.
- [37] J. Márquez, (2009) Cocos Gram Positivos, *Staphylococcus* y *Micrococcus* Microbiología Farmacéutica. Arequipa, Perú.
- [38] D. van Duin, D. Paterson. (2016, june 30). Multidrug-Resistant Bacteria in the Community: Trends and Lessons Learned. *Infectious Disease Clinics of North America*. 377-390.
- [39] M. Helfand, C. Bethel, A. Hujer, (2003, December 26). Understanding Resistance to  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the SHV  $\beta$ -Lactamase. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 278, No. 52, pp. 52724–52729.
- [40] Centers for Disease Control and Prevention. (2018). CDC: *E. coli* (*Escherichia coli*).
- [41] A. Pebdeni, A. Roshani, E. Mirsadoughi, S. Behzadifar, M. Hosseini, (2022) Recent advances in optical biosensors for specific detection of *E. coli* bacteria in food and water, *Food Control*, Volume 135, 108822.
- [42] A. Zaror, (2016). Infecciones por estafilococos - Síntomas y causas.
- [43] T. Liang, H. Zhang, H. Pan, Y. Zhao, (2022) Insight into microbiologically induced corrosion performance of magnesium in tryptic soy broth with *S. aureus* and *E. coli*, *Journal of Materials Science & Technology*, Volume 115, Pages 221-231.

- [44] N. Fuente, J.M Villareal, M. Díaz, A. García. (2015, mayo 21). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*.
- [45] L. Short, V. Lee, R. Mamun, R. Malmberg, L. Li, M. Espinosa, Kr. Abbu, J. Algie, A. Callaghan, P. Nere, V. Cullen, M. Gooden, M. Kanoun, A. Lawrie, J. Maher, V. Malek, Z. Safdari, B. Shehadie, S. Shifa, I. Simpson, M. Towns, S. Valter, K. Venkatesan, T. Paulsen, (2021) Benzalkonium chloride antagonises aminoglycoside antibiotics and promotes evolution of resistance, *EBioMedicine*, Volume 73, 103653.
- [46] L. Renggli, M. Gasser, C. Plüss-Suard, A. Kronenberg, (2021) Consumption of anti-meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotics in Swiss hospitals is associated with antibiotic stewardship measures, *Journal of Hospital Infection*, Volume 117, Pages 165-171
- [47] T. Akiyama, M. Kim, (2021) Stochastic response of bacterial cells to antibiotics: its mechanisms and implications for population and evolutionary dynamics, *Current Opinion in Microbiology*, Volume 63, Pages 104-108.
- [48] T. Fekete, H. Tumah, J. Woodwell, A. Truant, V. Satischandran, P. Axelrod, B. Kreter, (1994) A comparison of serial plate agar dilution, bauer-kirby disk diffusion, and the vitek automicrobic system for the determination of susceptibilities of *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, and *Pseudomonas aeruginosa* to ten antimicrobial agents, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, Volume 18, Issue 4, Pages 251-258.
- [49] J. Faría Reyes, A. García Urdaneta, P. Izquierdo Corser, M. Allara Cagnasso, K. Valera Leal. (2002). Aislamiento de bacterias gram positivas de leche cruda con residuos de antimicrobianos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(1), 68-73.



- [50] M. Zabaloy, M. Gómez (2004). Utilización de 2,3,5-cloruro de trifeniltetrazolio como indicador de desarrollo en bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. Sociedad de biología de Rosario-UNR.
- [51] N. Verissimo, A. Cremasco, C. Rodrigues, R. Bertazzoli, R. Caram, (2014). In situ characterization of the effects of Nb and Sn on the anatase–rutile transition in TiO<sub>2</sub> nanotubes using high-temperature X-ray diffraction, Applied Surface Science, Volume 307, Pages 372-381.
- [52] Md. Sahadat, S. Ahmed, (2023). Easy and green synthesis of TiO<sub>2</sub> (Anatase and Rutile): Estimation of crystallite size using Scherrer equation, Williamson-Hall plot, Monshi-Scherrer Model, size-strain plot, Halder- Wagner Model, Results in Materials, Volume 20,100492.
- [53] N. Wang, J. Li, L. Ye, X. Li, (2024). Heterogeneous nanostructure anatase/rutile titania supported platinum nanoparticles for efficient photocatalytic degradation of methylene blue dyes, Sustainable Chemistry for the Environment, Volume 5, 100072.
- [54] S. Zhao, H. Xiao, Y. Chen, Y. Qi, C. Yan, R. Ma, Q. Zhao, W. Liu, Y. Shen, (2024). Photocatalytic degradation of xanthates under visible light using heterogeneous CuO/TiO<sub>2</sub>/montmorillonite composites, Green and Smart Mining Engineering, Volume 1, Issue 1, Pages 67-75.
- [55] W. George, (2006). Powder Diffraction: The Rietveld Method and Two Stage Method to Determine and Refine Crystal Structures from Powder Diffraction Data. Berlin: Springer Science.
- [56] A. Simões, F. Gonzalez, (2009) Rietveld analysis and electrical properties of lanthanum doped BiFeO<sub>3</sub> ceramics, Mater. Chem. Phys. 116 305–309.

- [57] A. Sagdeo, P. Mondal, A. Upadhyay, A.K. Sinha, A.K. Srivastava, S.M. Gupta, P. Chowdhury, T. Ganguli, S.K. Deb, (2013) Correlation of microstructural and physical properties in bulk BiFeO<sub>3</sub> prepared by rapid liquid-phase sintering, Solid State Sci. 18, 1–9.
- [58] A. Srivastava, H. Singh, V. Awana, O. Srivastava, (2023) Enhancement in magnetic and dielectric properties of La and Pr co substituted BiFeO<sub>3</sub>, J. Alloys Compd. 552 336–344.
- [59] T. Zahan, Md. Tusher, F. Anwar, M. Monika, K. Amin, F.N.U. Asrafuzzaman, (2024) Effect of Ag-doping on morphology, structure, band gap and photocatalytic activity of bio-mediated TiO<sub>2</sub> nanoparticles, Results in Materials, Volume 22,100559.
- [60] K. Prajapat, U. Mahajan, M. Dhonde, K. Sahu, P.M. Shirage, (2024) Synthesis and characterization of TiO<sub>2</sub> nanoparticles: Unraveling the influence of copper doping on structural, surface morphology, and optical properties, Chemical Physics Impact, Volume 8,100607.
- [61] M. Alizadeh-Sani, A. Khezerlou, A. Ehsani. (2018) Fabrication and characterization of the bionanocomposite film based on whey protein biopolymer loaded with TiO<sub>2</sub> nanoparticles, cellulose nanofibers and rosemary essential oil, Ind. Crops Prod. 124, 300–315.
- [62] H. Ali, S. Dixit, B. Almutairi, N. Yadav, (2023) Synthesis and characterization of eco-friendly TiO<sub>2</sub> nanoparticle from combine extract of onion and garlic peel, Journal of King Saud University - Science, Volume 35, Issue 8, 102918.
- [63] J. Mullaivendhan, I. Akbar, A. Ahamed, H. Abdulrahman, (2024). Synthesis rifaximin with copper (Rif-Cu) and copper oxide (Rif-CuO) nanoparticles Considerable dye decolorization: An application of aerobic oxidation of eco-friendly sustainable approach, Heliyon, Volume 10, Issue 4, 25285.

- [64] S. Nouren, I. Bibi, A. Kausar, M. Sultan, H. Bhatti, Y. Safa, S. Sadaf, N. Alwadaj, M. Iqbal, (2024). Green synthesis of CuO nanoparticles using Jasmin sambac extract: Conditions optimization and photocatalytic degradation of Methylene Blue dye, Journal of King Saud University - Science, Volume 36, Issue 3, 103089.
- [65] Y. Zhu, Y. Huang, (2024). Development of a novel sensor for the detection of donepezil hydrochloride as Alzheimer's disease drug utilizing CuO-TiO<sub>2</sub> hybrid nanostructures, Alexandria Engineering Journal, Volume 95, Pages 14-23.
- [66] J. Stetefeld, S. McKenna, T. Patel. (2016). Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. Biophysical reviews, 8(4), 409–427.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.